

Авдонкина Н.А., Данилова А.Б., Нехаева Т.Л., Балдуева И.А.

Современные представления о клональной эволюции сарком

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

Прогресс в лекарственном лечении сарком невероятно медленный: в первую очередь ему препятствует часто развивающаяся устойчивость опухолей к стандартной химиотерапии препаратами в максимально переносимых дозах. Клональная эволюция опухолевых клеток порождает их высокую генетическую гетерогенность, лежащую в основе устойчивости к химио- и лучевой терапии. Следствием такой химиорезистентности является местное распространение и диссеминация процесса, что, в свою очередь, существенно снижает качество жизни пациента и повышает вероятность неблагоприятного исхода заболевания. Цель данной статьи — осветить современные представления о клональной эволюции опухолевых клеток и влияние этого процесса на перспективы терапии пациентов с саркомами.

Ключевые слова: саркома, химиотерапия, клональная эволюция, генетическая гетерогенность, обзор

Несмотря на то, что в последние годы в онкологии наблюдается интенсивный прогресс в лечении отдельных форм злокачественных новообразований, связанный с достижениями в молекулярной, клеточной биологии и иммуноонкологии, мировые показатели общей смертности практически не изменились, и прогноз для больных местнораспространенными и метастатическими формами рака остается немногим лучше, чем три десятилетия назад [1]. В то время как хирургическая резекция и лучевая терапия являются стандартом в лечении локализованных сарком мягких тканей (СМТ), химиотерапия — это необходимое условие терапии остеогенных сарком и основа лечения местно-распространенных и метастатических форм СМТ. Однако, для СМТ и остеогенных сарком устойчивость к химиотерапии и, как следствие, диссеминация процесса, по-прежнему остаются основными препятствиями в лечении. Как известно, в процессе опухолевой прогрессии малигнизированные клетки приобретают способность к неограниченному размножению, не поддающемуся контролю со стороны организма. Эти изменения ассоциированы со значительными генетическими модификациями,

которые представляют собой множественные геномные, хромосомные и точечные мутации, возникающие с течением времени. В результате злокачественные опухоли обычно представлены гетерогенным пулом клеток, которые отличаются по морфологии, фенотипу, экспрессии генов, метаболизму, иммуногенности, пролиферации и метастатическому потенциалу. Именно внутриопухолевая гетерогенность считается основной причиной множественной лекарственной устойчивости и неэффективности таргетной и иммунотерапии. Таким образом, изучение внутриопухолевой гетерогенности имеет большое биологическое и клиническое значение [2].

Для объяснения клонального характера опухолевой прогрессии, лежащей в основе возникновения злокачественных новообразований, были предложены многочисленные модели. В частности, первыми рассматривались конкурентная линейная модель эволюции Р.С. Nowell (1976) [3] и гипотеза опухолевых стволовых клеток (ОСК) А. Kreso (2014) [4].

Теория опухолевых стволовых клеток (ОСК) А. Kreso

Согласно гипотезе Kreso, нормальные стволовые клетки в человеческом организме представлены немногочисленными покоящимися клетками с неограниченным потенциалом деления и способностью дифференцироваться в морфологически разнообразное потомство. В процессе деления в результате возникновения хромосомных перестроек и точечных мутаций эти клетки приобретают новые свойства, позволяющие им инициировать канцерогенез, то есть превращаются в стволовые клетки опухоли (ОСК). В дальнейшем, продолжающиеся генетические изменения формируют клональное разнообразие клеток внутри опухолевой массы [4]. Согласно этой гипотезе ОСК несут ответственность за многие аспекты биологии злокачественных опухолей, включая онкогенез, метастазирование и лекарственную устойчивость [5].

Линейная модель эволюции Р.С. Nowell

Согласно модели Р.С. Nowell, в большинстве случаев злокачественные новообразования

являются потомством одной клетки, а прогрессирование заболевания происходит в результате приобретенной генетической изменчивости в исходном клоне, что позволяет последовательно развиваться наиболее агрессивным субклонам. Генетическая нестабильность популяции опухолевых клеток объясняет их высокую карiotипическую и биологическую индивидуальность, а устойчивость к лечению ассоциирована с появлением генетически измененной сублинии опухолевых клеток, обладающих соответствующими мутациями. Другими словами, популяция опухолевых клеток подвергается постоянной клональной селекции под воздействием различных экзо- и эндогенных воздействий, и генетические различия между отдельными клетками обеспечивают субстрат для подобного отбора. В качестве таких селективных факторов можно выделить влияние микроокружения, включая клетки иммунной системы, изменения pH, гипоксию, недостаток питательных веществ, химиотерапию, облучение.

В дальнейшем было высказано предположение, что гипотезы А. Kreso и P.C. Nowell не являются взаимоисключающими, поскольку ОСК могут быть единицей отбора во время инициации и прогрессирования опухолевого процесса [5].

На сегодняшний день получены доказательства правомочности моноклональной теории происхождения злокачественных новообразований благодаря исследованиям в области глубокого секвенирования образцов первичных опухолей, таких как рак молочной железы [6], предстательной железы [7], меланома кожи [8], колоректальный рак [9], рак поджелудочной железы [10], рак мочевого пузыря [11]. Особенно интересными представляются исследования злокачественных новообразований, в основе возникновения которых лежат последствия воздействия на клетки канцерогенных веществ. В этом случае логичным было бы предположить поликлональный характер опухолевой прогрессии, поскольку мутации могут затронуть многие клетки. Тем не менее, J. Zang et al. (2014), проанализировали результаты секвенирования 48 образцов 11 случаев аденокарциномы легкого и показали, что все клоны имеют общее происхождение [12].

Разработанный Сэгнером в 1975 году метод секвенирования по принципу «обрыва цепи» по-прежнему остается «золотым стандартом» среди существующих способов определения последовательности ДНК. Однако именно с появлением в 2005 году технологии секвенирование нового поколения (NGS) связан современный прогресс в изучении эволюционных процессов, происходящих в опухоли. В новом методе используются

платформы, генерирующие большое количество коротких фрагментов ДНК, расшифровка последовательности которых происходит как параллельный анализ миллиардов последовательностей. Это позволило существенно удешевить процесс и ускорить получение результатов.

NGS позволило обнаружить признаки внутриопухолевой гетерогенности различной степени выраженности в разных типах опухолей. Так, при анализе 4938362 мутаций в 7042 опухолевых образцах наибольшее количество генетических изменений было выявлено в клетках меланом, а наименьшее — в астроцитомах [13]. Эта методика позволила реконструировать линии опухолевых клеток и упорядочить хронологию мутаций, возникающих с течением времени. На основании подобных исследований было предложено несколько конкурирующих моделей эволюции опухолей: линейная, ветвящаяся, нейтральная и точечная [14] (рис. 1).

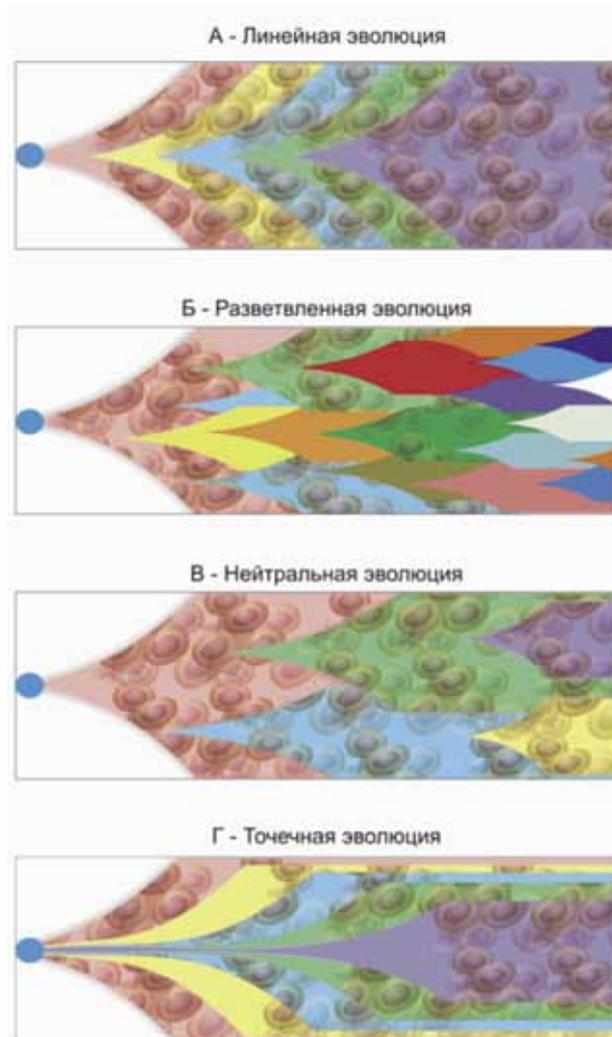


Рис. 1. Модели опухолевой эволюции. Линейная (А) Разветвленная (Б), Нейтральная (С), Прерывистая (точечная) (D). Цветами обозначены клоны с различным генотипом (по Davis A. et al., 2017) [14]

Линейная модель эволюции

Десятки лет линейная модель эволюции считалась наиболее популярной среди исследователей онкогенеза. Согласно этой модели, к образованию опухоли ведет последовательная цепочка специфических мутаций, в результате которых клетки приобретают все более агрессивные свойства и способность к метастазированию.

Ветвящаяся модель эволюции

В настоящее время все больше доказательств получает ветвящаяся модель эволюции, согласно которой опухолевые клоны расходятся от общего предка и в дальнейшем развиваются параллельно, что приводит к появлению нескольких равнозначных субклонов. В последствии новые мутации продолжают накапливаться в опухолевых клетках, приводя к всё большей внутриопухолевой гетерогенности. Правоту этой гипотезы иллюстрируют многочисленные исследования солидных опухолей человека эпителиального и мезенхимального происхождения, включая рак молочной железы [6], яичников [15], почки [16], остеогенные саркомы [17], липосаркомы [18]. При этом наблюдали выраженную вариабельность генома в опухолях различных нозологий. В частности, наибольшие различия между субклонами были продемонстрированы при трижды негативном раке молочной железы: в исследовании когорты из 104 пациенток с этим типом заболевания было выявлено до 19 клональных субпопуляций на опухоль [19]. Несколько позже Н.С. Veird et al. (2018), проведя геномное профилирование образцов 17 пациентов с недифференцированными и высокодифференцированными саркомами обнаружили увеличение числа соматических мутаций и накопление субклонов в процессе потери дифференцировки [20].

Нейтральная модель эволюции

Нейтральная и ветвящаяся модели эволюции предполагают постепенное изменение опухолевых клеток с течением времени. Тем не менее, в нейтральной модели все основные изменения, представляющие собой драйверные мутации, которые отвечают за опухолевую трансформацию и дальнейшую диссеминацию, происходят в самой первой злокачественной клетке, а последующие мутации не приводят к какому-либо значимому эффекту. Случайные мутации, накапливаясь, индуцируют генетический дрейф и образование множества равнозначных субклонов. Образовавшаяся при этом внутриопухолевая гетерогенность является побочным продуктом такой эволюции и не приводит к доминированию

какой-либо из образовавшихся ветвей, отрицая тем самым основные принципы дарвиновской эволюции. Возможность существования подобной модели была показана M.J. Williams et al. (2016) с помощью математического моделирования на основе полногеномного секвенирования образцов 14 типов солидных опухолей, где эта модель «работала» в 31,6% случаев (259 из 819) [21]. Таким образом, в случае отсутствия каких-либо значительных внешних изменений, позволяющих части опухолевых клонов приобрести конкурентное преимущество перед остальными, эволюция опухоли может идти по пути постепенного повышения внутриопухолевой гетерогенности [14]. Понимание того, что клональная динамика внутри опухоли может быть нейтральной, предполагает важность оценки таких показателей, как частота мутаций на митотическое деление и временной интервал мутации для прогнозирования и персонализации терапии у этих пациентов [21].

Точечная модель эволюции

Если описанные непрерывные модели эволюции опухолей предполагают постепенное приобретение опухолевыми клетками разнообразных точечных мутаций в течение значительного периода времени, то прерывистая (точечная) модель принципиально отличается отсутствием промежуточных звеньев. То есть, многочисленные клоны опухолевых клеток возникают на самых ранних этапах развития опухоли и несут геномные (анеуплоидии) и хромосомные (хромотреписис) изменения в клетках, что позволяет называть эту модель моделью «большого взрыва» [22]. Подобные изменения коррелируют с высокоагрессивной формой заболевания и обнаружены, в частности, в 25% случаев остеогенных сарком [23].

В настоящее время многие исследователи склонны рассматривать гибридные модели клональной эволюции, так как появляются свидетельства того, что разные эволюционные механизмы могут функционировать одновременно или сменять друг друга с течением времени. Такая гибридная модель предполагает, что все драйверные мутации приобретаются на начальных стадиях эволюции опухоли, после чего клоны размножаются без дальнейшего отбора. Подобные феномены обнаружены при изучении процессов прогрессии опухолей молочной железы. Так, Y. Wang et al. (2014), изучая клональное разнообразие и мутационную эволюцию опухолевых клеток у пациенток с раком молочной железы на основании результатов секвенирования генома отдельных клеток, установили, что ни одна клетка не имела идентичного геномного

профиля [24]. Таким образом, мутации, связанные с изменением числа копий генов, характерны для начальных периодов формирования опухолевого клона, а последующие точечные мутации приводят к дивергенции клеточного потомства и генерации значительной клональной неоднородности в ткани опухоли [25].

Особенности клональной эволюции СМТ

Большинство выводов о клональной эволюции опухолевых клеток сделано на основе анализа данных, полученных при изучении гемопоэтических злокачественных образований и опухолей эпителиального происхождения. Однако, СМТ, солидные опухоли мезенхимального происхождения, могут иметь иные механизмы генетической гетерогенности. СМТ клинически и генетически неоднородны, разные типы СМТ демонстрируют различные мутационные профили с преобладанием в одних случаях мутаций на уровне нуклеотидных последовательностей, а в других — в виде геномных и хромосомных aberrаций. До сих пор остается малоизученным тот факт, в какой степени эти факторы воздействуют на клональную эволюцию и, соответственно, внутриопухольную гетерогенность при этих заболеваниях. В исследовании J. Hofvander et al. (2018) методом полногеномного секвенирования было проанализировано 54 образца СМТ 20 пациентов на протяжении длительного промежутка времени (306 мес.), в том числе 5 высокодифференцированных липосарком (WDLS), 9 миксоидных липосарком (MLS) и 6 миксофибросарком со сложным геномом (CXS) [18]. Интересно, что в группе WDLS были получены данные о преобладании нейтральной эволюции с минимальными клональными изменениями на протяжении всего периода наблюдений, MLS продемонстрировали относительную генетическую стабильность с медленными клональными изменениями, связанными с мутациями на уровне нуклеотидов, а клональная эволюция CXS сопровождалась хромосомными и геномными мутациями. Кроме того, анализируя геномные aberrации в клетках опухолей с использованием математических моделей ученые показали, что генетические изменения, предшествующие образованию метастазов, присутствовали задолго до выявления первичной опухоли, что позволило предположить, что эти генетические изменения ответственны за формирование агрессивных клонов на ранних стадиях через реализацию эволюционной модели «большого взрыва». С. Walther et al. (2016), изучая 19 образцов рабдомиосарком различных гистологических подтипов, обнаружили выраженную генетическую гетерогенность и большое число субклональных

хромосомных и геномных мутаций в этих опухолях, включая изменения ploидности клеток, при этом высокая степень клонального разнообразия коррелировала с худшими результатами лечения у этих пациентов [26]. В атлас генома опухолевых клеток включена информация о 206 образцах 6 основных гистологических типов СМТ, взятых у взрослых пациентов. Пять из них характеризуются сложным комплексным кариотипом, вывод был сделан на основании изучения 80 образцов лейомиосарком (LMS), 50 недифференцированных липосарком (DDLPS), 44 недифференцированных плеоморфных сарком (UPS), 17 миксофибросарком (MFS), 5 опухолей из оболочек периферических нервов [27]. Шестой тип представлен 10 образцами синовиальной саркомы с простым кариотипом. На основании результатов полногеномного секвенирования были получены данные о низком уровне соматических мутаций в образцах исследованных СМТ. При этом все образцы DDLPS демонстрировали амплификации 12q13 ~ 15 и изменения генов, участвующих в ингибировании дифференцировки жировой ткани. Были выявлены 3 гена (*TP53*, *ATRX*, *RBI*), мутации в которых встречались чаще всего. При этом мутации *TP53*, антионкогена, экспрессирующего транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл, наиболее часто обнаруживались в LMS (в 50% случаев). На втором месте по частоте выявляемости были изменения в гене *ATRX*, которые связывают с репликативными нарушениями, приводящими к увеличению длины теломер. Так, 30% DDLPS имели делеции в этом гене. Мутации в гене-супрессоре *RBI*, ключевом компоненте негативного контроля клеточного цикла, встречались в UPS, MFS и LMS, составляя до 15% всех мутаций при LMS.

Особенности клональной эволюции остеогенных сарком

Остеогенные саркомы характеризуются высокой степенью генетической гетерогенности, связанной со сложными генетическими aberrациями и значительными внутригрупповыми вариациями, которые затрудняют идентификацию драйверных генов. Быстрое прогрессирование опухоли и раннее метастатическое распространение предполагает необходимость мультимодальных подходов к лечению, которые в настоящее время могут обеспечить долгосрочную выживаемость не более чем у 60% пациентов. Частично объяснение неудач в лечении может быть связано с различиями в структурных aberrациях, иницирующих начало заболевания и приводящих ко множеству мутаций в генах, из-за чего терапевтические мишени для остеогенных сарком до

сих пор так и не определены. В исследовании J.A. Perry и соавт. (2014) представлены результаты комплексного секвенирования 59 образцов остеогенных сарком. С наибольшей частотой (75%) в этом исследовании обнаруживались изменения в гене *TP53*. При этом в 34% случаев имели место множественные механизмы инактивации *TP53*. Кроме того, в единичных случаях отмечались мутации в генах *PTEN*, представляющем собой ген-супрессор, негативный регулятор пути PI3K/Akt/mTOR, и *RB1* [28]. В другой работе J.W. Martin et al. (2014) сообщают об анализе экспрессии генов в 32 случаях остеогенной саркомы у детей, также подтверждая высокое значение нарушений путей регуляции *RB1*, *TP53*, *PI3K*, и *PTEN* при этом типе опухолей. С наибольшей частотой обнаруживались мутации в следующих генах: *RUNX2*, кодирующем регуляцию дифференцировки костной ткани, *CDC5L*, регуляторе клеточного цикла, *MDM2*, инактиваторе транскрипции *TP53*, *RECQL4*, кодирующем ДНК-геликазу, и *CDK4*, кодирующем циклин-зависимую киназу [29]. D. Baumhoer (2016) представил результаты анализа секвенирования и количества генных копий 123 образцов остеогенных сарком, полученных до начала лечения, что позволило выявить мутации в 14 генах [17]. Хотя почти половину всех выявленных мутаций составляли изменения в генах *TP53* и *RB1*, не было найдено ни одной мутации, которая отвечала бы за инициацию этого типа опухолей. При полноэкзомном секвенировании 31 образца первичных остеогенных сарком, M. Kovacs et al. (2015) также обнаружили мутации в генах *TP53* и *RB1* [30]. Кроме того, более 80% остеосарком в этом исследовании демонстрировали признаки, характерные для опухолей с дефицитом *BRCA1/2* и нестабильностью генома, что открывает новые перспективы к разработке подходов к лечению этой гетерогенной группы заболеваний.

Индукцированная клональная опухолевая селекция

Гетерогенность опухолей выявляется не только на уровне отдельных пациентов, но и в пределах новообразования одного и того же больного. При этом единичный гистологический анализ образца опухолевой ткани, результаты которого служат для определения врачебной тактики, не дает полного представления о характере опухоли и обо всем генетическом многообразии составляющих ее клеток. По утверждению M. Gerlinger et al. (2014) геномный анализ, основанный на единственном образце биопсии, создает иллюзию «клонального доминирования» [16]. Это заключение было сделано на основании исследования внутриопухолевой гетерогенности

почечно-клеточных карцином 10 пациентов. При этом наблюдали значительную внутриопухолевую молекулярную гетерогенность: три четверти всех мутаций представляли собой единичные различные субклональные мутации, присутствующие в геноме отдельных клеток, находящихся в разных участках одной опухоли. Таким образом, если базироваться на результатах подобного анализа в единственном образце, можно создать ложное представление о характеристиках опухоли, что может привести к назначению неадекватной таргетной терапии. I.H. Rye et al. (2018) оценили клиническое значение гетерогенности внутриопухолевой экспрессии гена рецептора эпидермального фактора роста *HER2-neu*, опираясь на анализ 13 000 отдельно взятых опухолевых клеток в злокачественных новообразованиях молочной железы. Для изучения эволюции опухоли образцы были взяты до (n=37) и после неоадьювантной химиотерапии и таргетной терапии (n=22), а также из трех различных метастатических очагов. Ученые обнаружили, что высокая внутриопухолевая гетерогенность была связана с короткой безрецидивной выживаемостью и недостаточным ответом на таргетную терапию трастузумабом [31].

Таким образом, большое разнообразие в экспрессии генов на клеточном уровне не может быть в полной мере изучено с помощью секвенирования в объеме одного биоптата, что диктует необходимость разрабатывать иные диагностические подходы [32].

Процесс клональной эволюции, осуществляемый непрерывно в ходе опухолевой прогрессии, усиливается еще больше под воздействием химиотерапии, и по праву может быть назван опухолевой селекцией. Вопрос гетерогенности опухоли очень важен, поскольку этот фактор обязательно следует учитывать при планировании лечения. Эффективность лекарственного воздействия зависит от клонального разнообразия в популяции опухолевых клеток. Если популяция опухолевых клеток достаточно однородна, в процессе терапии она может быть практически полностью уничтожена, или воздействие лекарственного средства приведет к значительному уменьшению ее численности с последующим необратимым восстановлением опухолевой массы за счет пролиферации устойчивых клонов (рис. 2). Но препарат может не оказать влияния на разнообразие популяции опухолевых клеток, например, если все клоны опухоли оказываются резистентными.

В настоящее время существует мнение, что опухоли представляют собой гетерогенные популяции, которые содержат мутации, приводящие к формированию лекарственной устойчивости в минорных клонах, именно поэтому

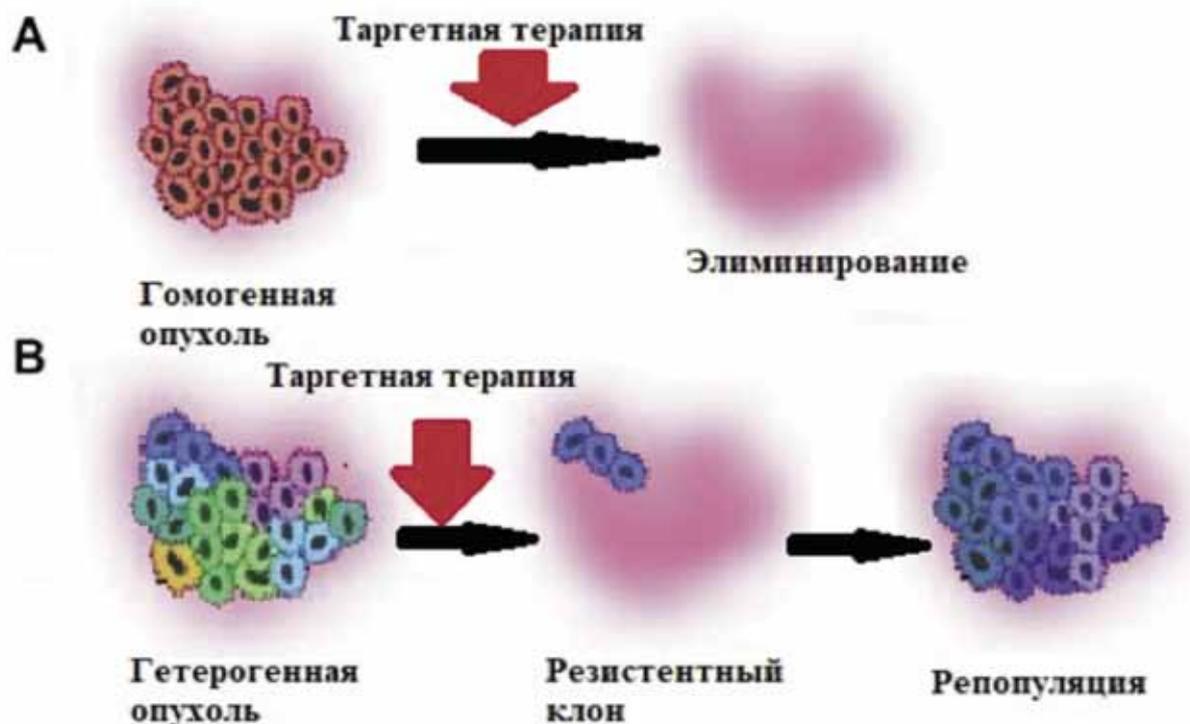


Рис. 2. Внутриопухелевая гетерогенность как универсальный прогностический маркер. Уничтожение гомогенной популяции опухолевых клеток в ответ на терапевтическое воздействие (А). Существование устойчивого к лекарственной терапии минорного клона в популяции приводит к клональной селекции опухолевых клеток с последующим восстановлением опухолевой массы (В) (по Gay L. et al., 2016) [33]

эмпирические исследования подтверждают необходимость количественного определения внутриопухелевой гетерогенности в качестве универсального прогностического биомаркера [33]. Так, анализ клеток рака молочной железы продемонстрировал, что там, где имела место высокая вариабельность РНК-транскриптов, отмечалась повышенная способность к метастазированию и устойчивость к химиотерапии [23]. Связь между выраженным клональным разнообразием и худшим прогнозом была продемонстрирована при остром миелолейкозе, раке яичников и раке легкого [33]. В исследовании М.С. Lee et al. (2014) полногеномное секвенирование выявило высокую гетерогенность экспрессии генов среди отдельных клеток линии рака молочной железы MDA-MB-231 [34]. Затем культура опухолевых клеток была подвергнута воздействию паклитаксела, препарата, воздействующего на организацию микротрубочек из димерных молекул тубулина и индуцирующего стабилизацию их структуры, что ингибирует их динамическую реорганизацию в интерфазе, и, в конечном итоге, нарушает процесс клеточного митоза. Было показано, что в результате воздействия паклитаксела сформировалась быстро пролиферирующая популяция устойчивых к препарату клеток, которая отличалась меньшей генетической гете-

рогенностью, но экспрессировала уникальные варианты генов, отвечающих за адгезию клеток и стабилизацию микротрубочек. Таким образом, внутриопухелевая гетерогенность создает субстрат для последующей клональной селекции под воздействием химиотерапевтических агентов. Можно утверждать, что выраженное генетическое разнообразие клеток внутри опухоли ассоциировано с высокой вероятностью формирования устойчивых к терапии опухолевых клонов.

В противоположность этому, ряд злокачественных новообразований с высокой степенью внутриопухелевой гетерогенности и дефектами репарации ДНК (микросателлитной нестабильностью MSI) характеризуется достаточно благоприятным прогнозом. Так, в исследовании А.І. Phipps и соавт. (2015) в образцах опухолей 2050 пациентов был изучена корреляция между опухолевыми маркерами, такими как мутации генов *KRAS* и *BRAF*, уровнем MSI и наличием дефектов метилирования ДНК [35]. Полученные данные продемонстрировали наибольшую выживаемость в группе с высокой MSI. В качестве одного из возможных объяснений может быть названа высокая иммуногенность таких опухолей и, соответственно, элиминирующее влияние иммунной системы.

В работе К.Н. Allison и G.W. Sledge (2014) на обширном материале было показано, что метастатические очаги могут существенно отличаться друг от друга и от первичной опухоли на уровне генома. Так, для колоректальной аденокарциномы в 11,6% было обнаружено различие по мутации в гене *KRAS* между первичной опухолью и метастазами. При аденокарциноме легкого частота расхождений по активирующей мутации в гене *EGFR* в парных метастазах достигала 24,4%, а у пациентов, получавших между биопсиями терапию ингибиторами *EGFR*, увеличивалась до 26,3%. Подобные наблюдения объясняют, почему метастазы одной опухоли демонстрируют разную реакцию на проводимое лечение: от резкого сокращения размера до продолжающегося роста [36]. Таким образом, метастатические очаги представляют собой результат эволюции субклона первичной опухоли, но в дальнейшем в метастатических очагах происходит независимая клональная селекция опухолевых клеток. Кроме того, на формирование генетической неоднородности в метастазах огромное влияние оказывает микроокружение, которое меняется в сравнении с таковым в первичном опухолевом очаге. Обычно клинические и молекулярно-генетические биомаркеры исследуются только в первичных опухолях, но для определения тактики лечения и прогноза исхода заболевания не в меньшей степени необходим анализ метастатических тканей [37].

Так, в исследовании M.S. Lawtence et al. (2013) была проанализирована геномная гетерогенность в 3083 образцах 27 видов злокачественных новообразований в парах «первичная-метастатическая опухоль» и было продемонстрировано, что средняя частота несинонимичных мутаций варьировала более чем на три порядка [38]. При этом выявлена существенная разница между опухолями, подвергнутых системному лечению, и в случае исключительно хирургического вмешательства: в отсутствие химиотерапевтического воздействия метастатические очаги были значительно более сходны с первичной опухолью. Таким образом, клональная селекция под воздействием химиотерапии существенно меняла геномный ландшафт в метастатических очагах.

Исследования влияния гормонотерапии на экспрессию рецепторов к эстрогенам в опухолях молочной железы показали, что мутации в гене, кодирующем эти рецепторы, практически не встречались при первичном раке молочной железы, однако у пациенток с метастазами на фоне проведения гормонотерапии их число возросло до 12% [36]. При этом на долю утяжеляющих клиническое течение мутаций пришлось 10,1% случаев, и потеря рецепторов к эстрогенам в метастатических очагах составила

12,4%. На фоне химиотерапии гетерогенность увеличивалась, что, с одной стороны, было связано с положительной опухолевой селекцией уже существующих мутантных клонов, а, с другой стороны, являлось следствием вновь индуцированных мутаций. Связь химиотерапии с изменением внутриопухолевой гетерогенности была показана также в работе D.A. Landau et al. (2013), которые исследовали эволюцию субклональных мутаций при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) [39]. Измеряя количество мутаций в нескольких временных точках, авторы отметили выраженные проявления клональной селекции у 10 из 12 пациентов с ХЛЛ, получавших химиотерапию, и только у одного из шести, не получавших лечение. Описанная авторами эволюция клонов проявлялась в возникновении новых мутаций, частота обнаружения которых увеличивалась со временем.

Клональная эволюция способствует повышению выживаемости малигнизированных клеток в неблагоприятных условиях высокодозной химиотерапии. Американские исследователи предложили несколько иной подход: введение низких доз химиопрепаратов в течение длительных периодов времени в рамках метронормальной терапии для поддержания объема опухоли на постоянном уровне [40]. Теоретическая концепция, лежащая в основе этой стратегии, основана на идее контроля размеров популяции существующих доминантных опухолевых клонов таким образом, чтобы минорные устойчивые клоны не получали селективного преимущества. Данная методика нуждается во всестороннем изучении, в том числе и на биологических моделях, в качестве которых могут быть использованы культуры клеток солидных опухолей.

Заключение

Анализ исследований по изучению клональной эволюции злокачественных новообразований показал, что опухолевый процесс сопровождается мутагенезом, при котором происходит генетическая и фенотипическая дивергенция малигнизированных клеток. Во многих опухолях выделяют субклоны, индивидуальные свойства которых создают значительные трудности в подборе таргетной терапии. Современные представления о клональной эволюции базируются в основном на исследованиях опухолей эпителиального происхождения. В этом отношении саркомы мягких тканей и остеогенные саркомы ввиду своей редкости и выраженной гетерогенности недостаточно изучены. Однако существующие на сегодняшний день достижения показывают определенные общие закономерности, которые нуждаются в дальнейшем изучении.

Исследования генетической гетерогенности опухолей делает очевидным факт воздействия Дарвиновского отбора, дающего преимущества тем клеткам, которые устойчивы к химиотерапии. При этом отсутствие иницирующего клональную селекцию воздействия (таргетной, лучевой, высокодозной химиотерапии) способствует эволюции нейтрального характера с накоплением большого числа мутаций и формированием внутриопухолевой гетерогенности. Кроме того, сами по себе эти иницирующие воздействия способны индуцировать генетические изменения и усилить вариативность генов.

Высокая генетическая неоднородность популяции опухолевых клеток усложняет выбор тактики лечения, которое в ряде случаев становится бесперспективным, поскольку индукция новых мутаций и селекция наиболее устойчивых клонов обеспечивает дальнейший рост и диссеминацию с образованием новых очагов. Кроме того, различие первичных и метастатических очагов на уровне генома и синтеза белков нивелирует действие химиопрепаратов, заставляя ученых и врачей всего мира искать новые способы лечения онкологических заболеваний.

Обзор написан при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-09014/18 от 04.09.2018.

ЛИТЕРАТУРА

- Bui N.Q., Wang D.S., Hiniker S.M. Contemporary management of metastatic soft tissue sarcoma // *Curr Probl Cancer*. — 2019. — doi: 10.1016/j.currproblcancer.2019.06.005.
- McGranahan N., Swanton C. Clonal Heterogeneity and Tumor Evolution: Past, Present, and the Future // *Cell*. — 2017. — Vol. 168(4). — P. 613-628. — doi: 10.1016/j.cell.2017.01.018.
- Nowell P.C. The clonal evolution of tumor cell populations // *Science*. — 1976. — Vol. 194(4260). — P. 23-28. — doi: 10.1126/science.959840.
- Kreso A., Dick J.E. Evolution of the cancer stem cell model // *Cell Stem Cell*. — 2014. — Vol. 14(3). — P. 275-291. — doi: 10.1016/j.stem.2014.02.006.
- Ellsworth D.L., Blackburn H.L., Shriver C.D. et al. Single-cell sequencing and tumorigenesis: improved understanding of tumor evolution and metastasis // *Clin. Transl. Med.* — 2017. — Vol. 6(1). — P. 15. — doi: 10.1186/s40169-017-0145-6.
- Yates L.R., Gerstung M., Knappskog S. et al. Subclonal diversification of primary breast cancer revealed by multi-region sequencing // *Nat Med*. — 2015. — Vol. 21. — P. 751-759. — doi: 10.1038/nm.3886.
- Boutros P.C., Fraser M., Harding N.J. et al. Spatial genomic heterogeneity within localized, multifocal prostate cancer // *Nat Genet*. — 2015. — Vol. 47. — P. 736-745. — doi: 10.1038/ng.3315.
- Harbst K., Lauss M., Cirenajwis H. et al. Multiregion whole-exome sequencing uncovers the genetic evolution and mutational heterogeneity of early-stage metastatic melanoma // *Cancer Res*. — 2016. — Vol. 76. — P. 4765-4774. — doi: 10.1158/0008-5472.
- Kang H., Salomon M.P., Sottoriva A. et al. Many private mutations originate from the first few divisions of a human colorectal adenoma // *J Pathol*. — 2015. — Vol. 237. — P. 355-362. — doi: 10.1002/path.4581.
- Yachida S., Jones S., Bozic I. et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer // *Nature*. — 2010. — Vol. 467. — P. 1114-1117. — doi: 10.1038/nature09515.
- Li Y., Xu X., Song L. et al. Single-cell sequencing analysis characterizes common and cell-lineage-specific mutations in a muscle-invasive bladder cancer // *GigaScience*. — 2012. — Vol. 1. — P. 12. — doi: 10.1186/2047-217X-1-12.
- Zhang J., Fujimoto J., Zhang J. et al. Intratumor heterogeneity in localized lung adenocarcinomas delineated by multiregion sequencing // *Science*. — 2014. — Vol. 346. — P. 256-259. — doi: 10.1126/science.1256930.
- Alexandrov L.B., Nik-Zainal S., Wedge D.C. et al. Signatures of mutational processes in human cancer // *Nature*. — 2013. — Vol. 500(7463). — P. 415-421. — doi: 10.1038/nature12477.
- Davis A., Gao R., Navin N. Tumor evolution: Linear, branching, neutral or punctuated? // *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer*. — 2017. — Vol. 1867(2). — P. 151-161. — doi: 10.1016/j.bbcan.2017.01.003.
- McPherson A., Roth A., Laks E. et al. Divergent modes of clonal spread and intraperitoneal mixing in high-grade serous ovarian cancer // *Nat Genet*. — 2016. — Vol. 48(7). — P. 758-767. — doi: 10.1038/ng.3573.
- Gerlinger M., Horswell S., Larkin J. et al. Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing // *Nat Genet*. — 2014. — Vol. 46. — P. 225-233. — doi: 10.1038/ng.2891.
- Baumhoer D. The clonal evolution of osteosarcomas // *Pathologie*. — 2016. — Vol. 37(Suppl 2). — P. 163-168. — doi: 10.1007/s00292-016-0200-x.
- Hofvander J., Viklund B., Isaksson A. et al. Different patterns of clonal evolution among different sarcoma subtypes followed for up to 25 years // *Nature communications*. — 2018. — Vol. 9(1). — P. 3662. — doi: 10.1038/s41467-018-06098-0.
- Shah S.P., Roth A., Goya R. et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers // *Nature*. — 2012. — Vol. 486(7403). — P. 395-399. — doi: 10.1038/nature10933.
- Beird H.C., Wu C.C., Ingram D.R. et al. Genomic profiling of dedifferentiated liposarcoma compared to matched well-differentiated liposarcoma reveals higher genomic complexity and a common origin // *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. — 2018. — Vol. 4(2). — doi:10.1101/mcs.a002386.
- Williams M.J., Werner B., Barnes C.P., Graham T.A., Sottoriva A. Identification of neutral tumor evolution across cancer types // *Nat Genet*. — 2016. — Vol. 48(3). — P. 238-244. — doi: 10.1038/ng.3489.
- Sottoriva A., Kang H., Ma Z. et al. Bang model of human colorectal tumor growth // *Nat Genet*. — 2015. — Vol. 47. — P. 209-216. — doi: 10.1038/ng.3214.
- Zhang C.Z., Spektor A., Cornils H. et al. Chromothripsis from DNA damage in micronuclei // *Nature*. — 2015. — Vol. 522(7555). — P. 179-184. — doi: 10.1038/nature14493.

24. Wang Y, Waters J., Leung M.L. et al. Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing // *Nature*. — 2014. — Vol. 512 — P. 155–160. — doi: 10.1038/nature13600.
25. Saito T, Niida A., Uchi R. et al. A temporal shift of the evolutionary principle shaping intratumor heterogeneity in colorectal cancer // *Nature Communications*. — 2018. — Vol. 9(1). — P. 2884. — doi: 10.1038/s41467-018-05226-0.
26. Walther C., Mayrhofer M., Nilsson J. et al. Genetic heterogeneity in rhabdomyosarcoma revealed by SNP array analysis // *Genes Chromosomes Cancer*. — 2016. — Vol. 55(1). — P. 3-15. — doi: 10.1002/gcc.22285.
27. Abeshouse A., Adebamowo C., Adebamowo S. et al. Comprehensive and Integrated Genomic Characterization of Adult Soft Tissue Sarcomas // *Cell*. — 2017. — Vol. 171. P. 950-965. — doi: 10.1016/j.cell.2017.10.014.
28. Perry J.A., Kiezun A., Tonzi P. et al. Complementary genomic approaches highlight the PI3K/mTOR pathway as a common vulnerability in osteosarcoma // *Proc Natl Acad Sci USA*. — 2014. — Vol. 111(51). — E. 5564-5573. — doi: 10.1073/pnas.1419260111.
29. Martin J.W., Chilton-MacNeill S., Koti M. et al. Digital expression profiling identifies RUNX2, CDC5L, MDM2, RECQL4, and CDK4 as potential predictive biomarkers for neo-adjuvant chemotherapy response in paediatric osteosarcoma // *PLoS ONE*. — 2014. — Vol. 9(5). — E95843. — doi: 10.1371/journal.pone.0095843.
30. Kovac M., Blattmann C., Ribl S. et al. Exome sequencing of osteosarcoma reveals mutation signatures reminiscent of BRCA deficiency // *Nat Commun*. — 2015. — Vol. 6. — P. 8940. — doi: 10.1038/ncomms9940.
31. Rye I.H., Trinh A., Saetersdal A.B. et al. Intratumor heterogeneity defines treatment-resistant HER2+ breast tumors // *Mol Oncol*. — 2018. — Vol. 12(11). — P. 1838-1855. — doi: 10.1002/1878-0261.12375.
32. Kandath C., McLellan M.D., Vandin F. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types // *Nature*. — 2013. — Vol. 502. — P. 333-339. — doi: 10.1038/nature12634.
33. Gay L., Baker A.M., Graham T.A. Tumour Cell Heterogeneity. // *F1000Research*. — 2016. — Vol. 5. — F1000 Faculty Rev-238. — doi: 10.12688/f1000research.7210.1.
34. Lee M.C., Lopez-Diaz F.J., Khan S.Y. et al. Single-cell analyses of transcriptional heterogeneity during drug tolerance transition in cancer cells by RNA sequencing // *Proc Natl Acad Sci USA*. — 2014. — Vol. 111(44). — E. 4726–4735. — doi: 10.1073/pnas.1404656111.
35. Phipps A.I., Limburg P.J., Baron J.A. et al. Association between molecular subtypes of colorectal cancer and patient survival // *Gastroenterology*. — 2015. — Vol. 148(1). — P. 77–87. — doi: 10.1053/j.gastro.2014.09.038.
36. Allison K.H., Sledge G.W. Heterogeneity and cancer // *Oncology (Williston Park)*. — 2014. — Vol. 28. — P. 772–778.
37. Stanta G., Bonin S. Overview on Clinical Relevance of Intra-Tumor Heterogeneity // *Frontiers in medicine*. — 2018. — Vol. 5. — P. 85. — doi: 10.3389/fmed.2018.00085.
38. Lawrence M.S., Stojanov P., Polak P. et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes // *Nature*. — 2013. — Vol. 499(7457). — P. 214-218. — doi: 10.1038/nature12213.
39. Landau D.A., Carter S.L., Stojanov P. et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia // *Cell*. — 2013. — Vol. 152(4). — P. 714-726. — doi: 10.1016/j.cell.2013.01.019.
40. Enriquez-Navas P.M., Wojtkowiak J.W., Gatenby R.A. Application of evolutionary principles to cancer therapy // *Cancer Res*. — 2015. — Vol. 75(22). — P. 4675–4680. — doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1337.

Поступила в редакцию 05.08.2019 г.

Avdonkina N.A., Danilova A.B., Nehaeva T.L., Baldyeva I.A.

Modern ideas about clonal evolution of sarcomas

FSBI «N.N. Petrov NMRC of Oncology» Ministry of Healthcare of The Russian Federation, Saint-Petersburg

The progress in drug treatment of sarcomas is incredibly slow: primary, it is hindered by often developing resistance of tumors to standard chemotherapy with drugs in the maximum tolerated dosages. The clonal evolution of the tumor mass generates a high genetic heterogeneity of cancer cells, which underlies resistance to chemo- and radiotherapy. The consequence of such chemoresistance is local distribution and dissemination of the process, which, in turn, significantly reduces the quality of life of the patient and increases the probability of an adverse outcome of the disease. The purpose of this article is to highlight the modern understanding of the clonal evolution of tumor cells and the effect of this process on the clinical prospects of cancer patients.

Key words: sarcoma, chemotherapy, clonal evolution, genetic heterogeneity, review