

SOCIAL BEHAVIOUR
OF NORMAL CELLS AND
ANTI-SOCIAL BEHAVIOUR
OF TUMOR CELLS
I. SIGNAL MOLECULES
INDUCING CELL
MULTIPLICATION
AND CELL DEATH

Yu. M. VASIL'EV

It is shown that formation of tumors is a result of clonal growth of cells carrying mutations of genes responsible for the processing of signals controlling cell multiplication or programmed death. The nature of signals transmitted from cell to cell through humoral medium is described and molecular mechanisms of signal processing inside the cells are discussed.

Показано, что образование опухолей – результат клонального роста клеток, содержащих мутации генов, ответственных за проведение сигналов, контролирующих клеточное размножение и программированную смерть клеток. Обсуждаются природа молекул, передающих сигналы от клетки к клетке через гуморальную среду, а также молекулярные механизмы проведения сигналов внутри клетки.

© Васильев Ю.М., 1997

СОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И АНТИСОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

I. Сигнальные молекулы, вызывающие размножение и гибель клеток

Ю. М. ВАСИЛЬЕВ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ИЗУЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ – ОСНОВА АНАЛИЗА НОРМАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ КЛЕТОК

Всякий знает, что злокачественные опухоли (рак, саркомы) и близкие к ним по природе разрастания кроветворных клеток (лейкозы) – тяжелейшие заболевания человека и что предотвращение и лечение этих заболеваний – важнейшая задача медицины. Вместе с тем выяснение природы опухолевых заболеваний – одна из центральных проблем современной клеточной биологии. Дело в том, что основой этих заболеваний являются появление и размножение в организме особых генетически измененных (мутантных) клеток организма. Исследования показали, что каждая опухоль возникает обычно в результате появления в какой-либо ткани одной-единственной измененной клетки, затем опухоль растет только за счет размножения потомков этой клетки. Как говорят биологи, каждая опухоль есть клон, то есть колония, выросшая из одной мутантной клетки. При этом речь идет о мутациях, меняющих такие свойства клеток, о которых раньше мы знали очень мало: эти мутации меняют социальное поведение клеток. Что это значит? Каждая клетка в нашем и любом многоклеточном организме является, по определению, членом сложнейшего сообщества. Еще более 100 лет назад знаменитый немецкий патолог Рудольф Вирхов очень точно назвал наш организм “государством клеток”. И в государстве и в организме поведение индивидуума (клетки или человека) разумно и нормально тогда, когда он адекватно реагирует на социальные сигналы – сигналы от других членов сообщества. Человек, неадекватно реагирующий на социальные сигналы, часто становится преступником. Клетка, неадекватно реагирующая на социальные сигналы, может дать начало опухоли.

В биологии создание и изучение организмов с различными дефектами определенной функции часто становятся основным способом анализа нормального механизма этой функции. Например, разбирая природу мутаций, нарушающих разные этапы свертывания крови у человека, исследователи сумели расшифровать сложнейшую систему белков, контролирующую это свертывание. Подобно этому, анализ свойств опухолевых клеток, выяснение сути их генетических дефектов оказались наиболее эффективным способом расшифровки молекулярных механизмов нормальных реакций клеток на социальные сигналы. Разберем некоторые результаты этих исследований.

ОНКОГЕНЫ И АНТИОНКОГЕНЫ

Прежде всего отметим, что вызвать превращение нормальных клеток в опухолевые (начальную опухолевую трансформацию) или увеличение степени ненормальности этих клеток (последующие трансформации) способны мутации многих генов, кодирующих многие белки. Обычно различают две большие группы таких генов: онкогены и антионкогены (рис. 1). Онкогены – это гены, мутации которых вызывают трансформацию потому, что в клетке их продукт (онкобелок) появляется в увеличенном количестве или приобретает измененную структуру. Иными словами, присутствие такого онкобелка в клетке необходимо для появления и поддержания трансформации. Как известно, у всех клеток с двойным (диплоидным) набором хромосом имеется по два гена каждого вида. Для трансформации достаточна мутация даже одного гена из пары нормальных генов – предшественников протоонкогена (такие нормальные гены называют протоонкогенами). Как говорят генетики, мутации, превращающие протоонкоген в онкоген, доминантны.

Антионкогены обладают совсем иными, во многом противоположными свойствами. Для появления или усиления трансформации необходима инактивация обоих членов каждой пары антионкогенов, имеющих в клетке. Инактивация только одного из генов пары к трансформации не приводит. Таким образом, мутации, инактивирующие антионкогены, рецессивны.

В нормальном геноме клеток млекопитающих и птиц к настоящему времени уже выявлено несколько десятков типов протоонкогенов и более дюжины типов антионкогенов. Вероятно, в ближайшем будущем число известных генов обеих групп существенно увеличится. Развитие опухоли не всегда бывает результатом единственной мутации: внутри разросшегося клона с поломкой одного гена могут появиться клетки с поломкой другого гена, затем третьего и т.д. Раковые опухоли человека обычно результат целой серии поломок разных генов.

Таким образом, в клетке имеется сложная система генов, изменения которых вызывают или тормозят опухолевую трансформацию. Каковы нормальные функции этих генов? Например, протоонкогены впервые были выявлены по их способности, мутируя, превращаться в онкогены и вызывать трансформацию, однако абсурдно было бы полагать, что до этого изменения, к счастью редкого, протоонкогены ничего не делают в нормальной клетке. Далее мы разберем данные, показывающие, что продукты протоонкогенов и антионкогенов являются компонентами системы реакций клетки на внешние сигналы. Однако сначала попробуем разобраться в том, о каких сигналах и каких реакциях идет речь.

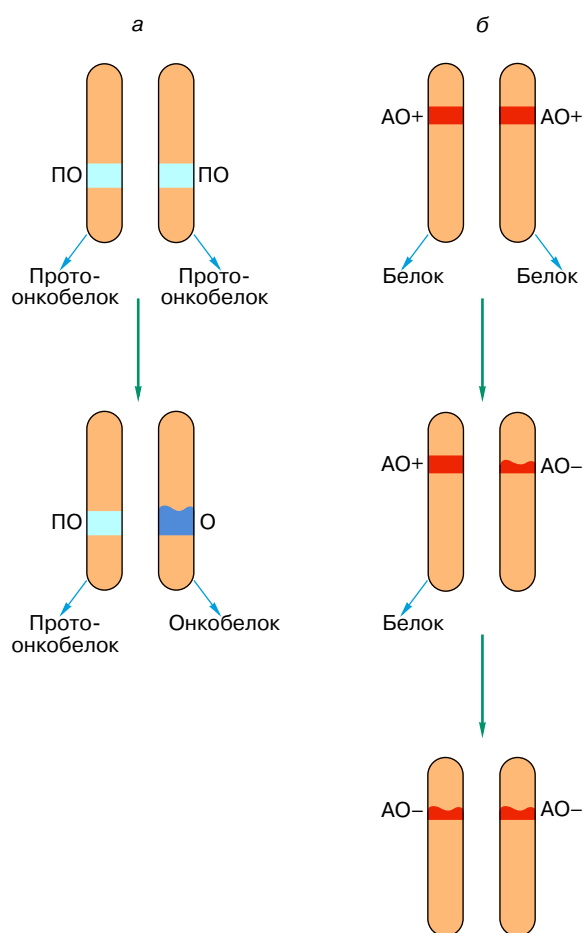


Рис. 1. Схема изменений двух типов генов, участвующих в опухолевых трансформациях: а – изменения протоонкогенов (ПО). Изменения одного из генов пары ПО, превращения его в онкоген (О), кодирующий патологический онкобелок, достаточно для трансформации; б – изменения антионкогенов (АО+). Инактивация одного из этих генов (АО-), например утрата части гена или всего гена, не вызывает изменений клетки, так как второй ген пары продолжает нормально функционировать. Только потеря функции обоих генов пары ведет к трансформации

КЛЕТКИ ВЫДЕЛЯЮТ МОЛЕКУЛЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ДРУГИХ КЛЕТОК

Наиболее изученный вариант социальной регуляции — индукция размножения клеток гуморальными факторами, то есть молекулами, выделяемыми другими клетками в жидкую среду, окружающую клетку (кровь или тканевую жидкость в организме, питательную среду в культуре).

Среди таких факторов всем известны гормоны — молекулы, синтезируемые клетками специальных эндокринных желез и разносимые кровью по всему организму. Попадая с кровью в чувствительную ткань, гормон наряду с другими факторами может стимулировать размножение клеток этой ткани. Например, женские половые гормоны, выделяемые клетками яичника, могут активировать размножение клеток таких органов, как матка или молочная железа. Разные гормоны, выделяемые гипофизом, расположенным внутри черепа, могут избирательно стимулировать клетки определенных эндокринных желез, расположенных вдали от гипофиза. Например, тиреотропный гормон гипофиза стимулирует клетки щитовидной железы, аденокортикотропный гормон гипофиза — клетки коры надпочечников и т.д.

Наряду с давно открытыми гормонами за последние два десятилетия обнаружена другая большая группа молекул регуляторов размножения клеток — так называемые факторы роста. Показано, например, что один из типов клеток крови, тромбоцит, разрушаясь, выделяет белок, стимулирующий размножение фибробластов соединительной ткани. Этот белок был назван тромбоцитарным фактором роста (ТФР). ТФР, по-видимому, играет важную роль в механизме заживления ран. Когда кровь из разорванных кровеносных сосудов изливается в рану, то содержащиеся в ней тромбоциты разрушаются. Выделенный ТФР может активировать миграцию и размножение окружающих рану фибробластов, приводящие в конце концов к появлению рубца на месте раны. ТФР, выделившийся из тромбоцитов, всегда содержится в сыворотке крови, которую добавляют к среде культур для стимуляции размножения фибробластов и других клеток.

Когда мы говорим, что гормон или фактор роста стимулирует размножение, вхождение клетки в митотический цикл, то речь идет о глубокой многофазной и многофазной перестройке всей деятельности клетки. Напомним, что обычно различают следующие фазы цикла, завершающегося делением (рис. 2). Состояние клетки до получения стимула к делению называется фазой G_0 , она может длиться относительно долго. После получения стимула клетка вступает в фазу G_1 , когда идет подготовка к синтезу ДНК. В следующей фазе — S идет синтез ДНК, геном клетки удваивается. В короткой фазе G_2 после окончания синтеза ДНК идет подготовка к де-

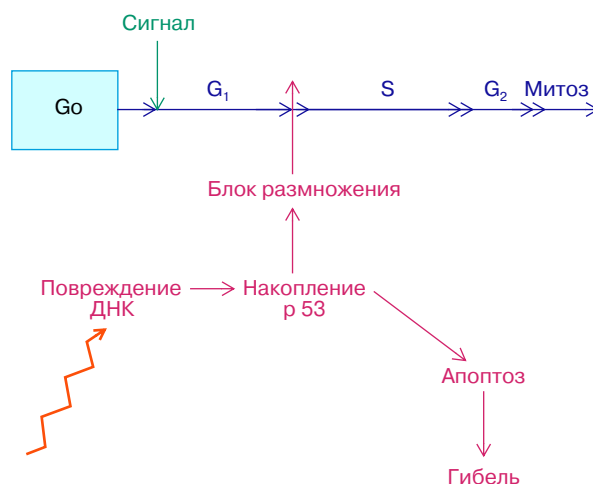


Рис. 2. Упрощенная схема стадий митотического цикла (вверху) и системы, охраняющей геном: повреждение ДНК-лучами или другими агентами невыясненным еще путем приводит к накоплению белка p53, включающего реакции, блокирующие митотический цикл на границе фаз G_1 и S , а позднее включающего реакции, ведущие к программированной гибели клетки (апоптозу)

лению, а затем сам митоз (фаза M). Внешние для клетки факторы, стимулирующие деление, регулируют в основном переход G_0 — G_1 .

При опухолевых трансформациях клетка приобретает способность входить из G_0 в G_1 и проходить весь цикл даже без внешней или по крайней мере при ослабленной стимуляции. Пролиферацию опухолевых клеток отличает от нормы именно эта независимость от стимулирующих факторов, нерегулируемость размножения, а не его скорость: продолжительность фаз $G_1 + S + G_2 + M$ после трансформации может не уменьшаться по сравнению с нормой. Даже клетки самых злокачественных опухолей делятся не чаще, чем стимулированные нормальные клетки. Например, клетки рака молочной железы делятся даже реже, чем клетки нормальной молочной железы в начале беременности, в период максимальной гормональной стимуляции. Беда в том, что опухолевые клетки не требуют такой стимуляции для своего размножения и потому могут размножаться непрерывно.

КЛЕТКИ ВЫЗЫВАЮТ СМЕРТЬ СВОИХ СОБРАТЬЕВ

В ответ на внешний сигнал клетки могут не только делиться, но и гибнуть. Эту реакцию называют программированной гибелью, или апоптозом. Непрограммированная смерть клетки (некроз) возникает в результате повреждения клетки внешним воздействием: механического разрыва, перегрева, переохлаждения и т.д. Напротив, при апоптозе внешний агент сам по себе безвреден для клетки, но

включает цепь биохимических изменений, приводящих клетку к гибели. Одним из таких конечных изменений является активация специального фермента, ДНК-азы, разрезающего ДНК клетки на куски и, естественно, делающего клетку недееспособной. Примеры апоптоза многочисленны. Например, как все знают, при метаморфозе у лягушек, то есть при превращении хвостатого головастика в бесхвостого лягушонка, происходит исчезновение (резорбция) хвоста. Такая резорбция вызывается гормоном, который во время метаморфоза начинает усиленно вырабатывать щитовидная железа головастика. Недавно показано, что при этом в клетках хвоста включается программа апоптоза, которая и приводит к резорбции. Апоптоз лимфоцитов в культуре вызывают некоторые гормоны коры надпочечников (стероиды). В некоторых случаях сигналом к апоптозу является, по-видимому, не гормон, а его исчезновение, прекращение гормонального сигнала. Например, прекращение лактации (вскармливания молоком детенышей) вызывает быструю гибель большей части клеток молочных желез у мыши-самки (и, по всей вероятности, у других млекопитающих). Прекращение вскармливания быстро вызывает у мыши падение уровня гормона гипофиза (пролактина) и других гормонов, активировавших молочную железу. Это резкое понижение гормонального сигнала, по-видимому, приводит к массовому и быстрому апоптозу клеток.

Опухолевые трансформации делают клетку менее чувствительной или совсем нечувствительной к сигналам, вызывающим апоптоз. Например, прекращение кормления у мыши-самки приводит к апоптозу нормальных клеток молочной железы, но не вызывает гибели клеток доброкачественных и злокачественных клеток опухолей молочной железы, если такие опухоли у мыши имеются.

Очень интересные результаты дал генетический анализ одного из вариантов лимфомы человека (доброкачественной опухоли из лимфоидных клеток). Оказалось, что для клеток этой лимфомы характерна мутация неизвестного до того протоонкогена, названного онкогеном *bcl-2*. Анализ показал, что мутация, активирующая этот ген, тормозит апоптоз лимфоидных клеток. Такой апоптоз все время происходит в норме, уравнивая размножение лимфоидных клеток. После трансформации клетки продолжают размножаться, подобно нормальным, но перестают гибнуть, и поэтому число мутантных клеток непрерывно увеличивается, возникают опухолевые узлы. Открытие *bcl-2* стало началом изучения группы родственных ему генов, регулирующих апоптоз.

КАК КЛЕТКА ЧУВСТВУЕТ И ПРОВОДИТ ВНЕШНИЕ СИГНАЛЫ

Мы говорили о том, как клетки реагируют на сигнальные молекулы (гормоны или факторы рос-

та). Как осуществляются эти реакции? Как молекула, находящаяся вне клетки, вызывает перестройку всех процессов внутри клетки, приводящую в конце концов к делению этой клетки или ее гибели? Лучше всего в этом плане изучены реакции на ростовые факторы, активирующие размножение (рис. 3). Первой стадией таких реакций является связывание молекулы-сигнала с соответствующей ей молекулой-рецептором. Для такого связывания сигнал и рецептор должны специфично соответствовать друг другу (избитое, но в общем верное сравнение – подходить друг к другу, как ключ к замку). Клетка каждого типа имеет специфичный для нее набор рецепторов, и этот набор определяет круг сигналов, на который эта клетка реагирует. Например, как мы

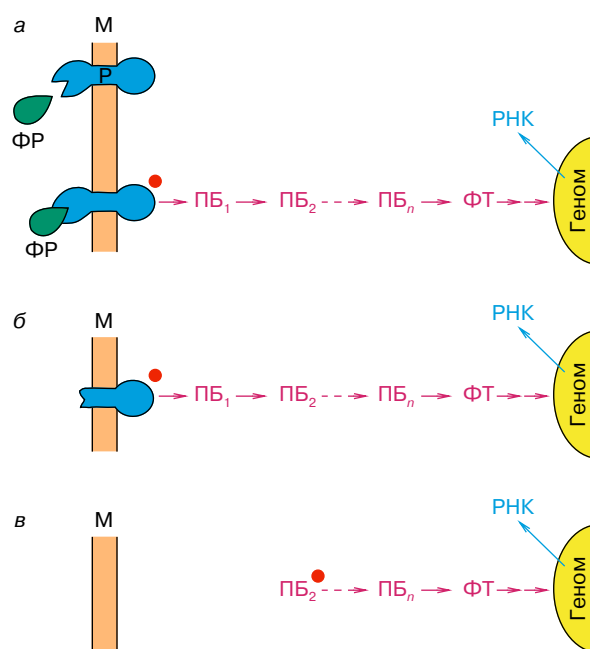


Рис. 3. Упрощенная схема передачи сигналов, индуцирующих размножение: а – передача сигнала в нормальной клетке. Молекула фактора роста (ФР) прикрепляется к наружной части молекулы специфического рецептора (Р), пересекающей клеточную мембрану (М). В результате такого связывания активируется внутренняя часть молекулы, что условно обозначено красной точкой. Активация передается затем по цепи специальных промежуточных белков (ПБ₁, ПБ₂... ПБ_п) на факторы транскрипции (ФТ), которые активируясь связываются с определенными участками ДНК и запускают синтезы, необходимые для подготовки к делению; б, в – передача “ложных сигналов” в опухолевых клетках: б – мутация в протоонкогене, кодирующем белок-рецептор делает этот белок неспособным связываться с фактором роста; патологический рецептор активирован постоянно и без такого связывания (красная точка!) и передает сигналы по цепи внутрь клетки; в – мутация в генах одного из промежуточных белков делает этот белок постоянно активированным и вызывают активацию следующих компонентов цепи

уже видели, молекулы тиреотропного гормона гипофиза циркулируют в крови и соприкасаются со всеми тканями, но связываются лишь с клетками щитовидной железы, поскольку только у этих клеток есть рецепторы для этих гормонов. Все рецепторы – белки. Рецепторы для большинства сигнальных молекул находятся на поверхности клетки. Эти рецепторные молекулы “протыкают” насквозь клеточную мембрану: наружная часть такой молекулы торчит на наружной поверхности мембраны, средняя часть проходит через липидную мембрану, а внутренняя часть находится под мембраной в цитоплазме. Сигнальная молекула, находящаяся снаружи клетки, связывается с наружной частью молекулы рецептора, торчащей из клетки, и обратимо меняет форму всей молекулы: наружной, средней и внутренней ее частей. Это изменение формы приводит молекулу рецептора в особое активированное состояние. В этом состоянии внутренняя часть молекулы становится способной вызывать в цитоплазме цепь химических реакций, проводящих сигнал. Таким образом, начало этих реакций может быть описано формулой

сигнал + рецептор → активированный комплекс;
сигнал – рецептор → начало реакций в цитоплазме.

В этих реакциях главную роль играет большая группа специальных ферментов – протеинкиназ, присоединяющих фосфатные группы к аминокислотным группам различных белков (рис. 4). Различают киназы, присоединяющие фосфат к аминокислоте тирозину (тирозин-киназы) или к аминокислотам треонину и серину (серин-треонин-киназы). У многих рецепторов внутренняя цитоплазматическая часть молекулы является тирозин-киназой, которая активируется после присоединения молекулы-сигнала к наружной части молекулы рецептора. Присоединение фосфата к определенному белку-ферменту в цитоплазме активирует этот белок, он тогда активирует следующий белок и т.д. Таким образом создается цепь активации специальных белков-ферментов, чаще всего киназ. При активации размножения в конце этой цепи находятся белки, расположенные в ядре. В некоторых случаях фосфорилирование белков заставляет их перейти из цитоплазмы в ядро.

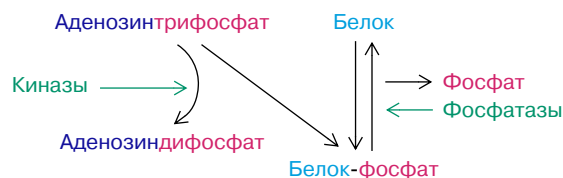


Рис. 4. Схема одного из механизмов активации белков в цепях передачи сигналов. Специфические ферменты – киназы присоединяют фосфатный остаток к белку, активируя его. Другие ферменты – фосфатазы отщепляют фосфат, прекращая активацию

Многие из этих белков, так называемые факторы транскрипции, при активации связываются с определенным участком ДНК, стимулируя синтез РНК на определенных генах. Эти РНК выходят в цитоплазму и служат матрицами для синтеза новых белков, необходимых для прохождения митотического цикла или, наоборот, для развития апоптоза. Таким образом, цепь проведения сигнала начинается со связывания сигнальной молекулы с рецептором, проходит через серию активаций промежуточных белков в цитоплазме и завершается активацией определенных участков генома. Все этапы такого проведения сигнала обратимы. Реакция прекращается, как только сигнальная молекула отделяется от рецептора, например если резко уменьшается концентрация этой молекулы во внешней среде. Обратимы и промежуточные этапы цепи реакций. Например, фосфатные группы, присоединенные киназой к белку, могут быть удалены с этого белка ферментом противоположного действия – фосфатазой. Сейчас интенсивно изучается роль разных фосфатаз в прерывании цепей проведения сигналов, но пока конкретно об этих прерывателях мы знаем еще мало. Сигнал может также прекратиться в результате быстрого распада самого сигнального белка. Расшифровать все эти сложные цепи реакций удалось благодаря изучению их нарушений в разных типах опухолевых клеток. Теперь мы можем ответить на вопрос о том, что делают в нормальной клетке белки – продукты протоонкогенов. Все эти белки – компоненты цепей проведения сигналов: сигнальные молекулы, молекулы рецепторов, киназы и другие белки цитоплазмы, активируемые сигналом, или, наконец, транскрипционные факторы в ядре. Когда протоонкоген мутирует в онкоген, его белок-продукт меняет свои свойства так, что он остается активированным все время независимо от того, действует ли на начало цепи сигнальная молекула из внешней среды. Так, в некоторых опухолях вместо получаемых извне сигнальных молекул клетка сама начинает делать такие молекулы (см. статью: *Васильев Ю.М.* Клетка как архитектурное чудо. Часть 2. Цитоскелет, способный чувствовать и помнить // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 4. С. 4–10). В других опухолевых клетках мутировали гены, кодирующие рецептор одного из факторов роста. Такой мутантный белок-рецептор остается активным все время даже без связывания сигнальной молекулы. Сходным образом, мутации генов промежуточных белков цепи и факторов транскрипции могут вызвать постоянную активацию размножения без внешнего сигнала, то есть изменения, типичные для опухолевых клеток.

Отметим, что о нормальных сигналах системы проведения сигналов мы знаем по существу пока очень немного. Например, мы не знаем, почему один сигнал включает деление клеток, а другой – их гибель, апоптоз. Чем различаются соответствующие цепи?

СИСТЕМА ВНУТРЕННЕЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛЕТКИ

Важнейший результат последних исследований биологии опухолевых трансформаций – открытие и изучение особой функциональной системы клетки: системы, охраняющей постоянство генома (см. рис. 2). Началось с открытия факта, который не казался особенно важным: в некоторых опухолях был обнаружен неизвестный белок с молекулярным весом 53 000D; белок был назван соответственно p53 (p-protein). Оказалось, что p53 – мутантный продукт соответствующего гена p53. Далее было показано, что нормальный белок p53 в клетке появляется в больших количествах после воздействия агентов, повреждающих ДНК, например после облучения ультрафиолетовыми или рентгеновыми лучами, которые вызывают разрывы цепей ДНК и другие повреждения этих цепей.

Было показано, что накопление продуктов нормального гена p53 останавливает прохождение клеткой митотического цикла на границе фаз G1 и S. В результате поврежденная клетка не может удвоить поврежденную ДНК и передать испорченный геном своим клеткам-потомкам при делении. У клетки есть специальные ферменты, ремонтирующие испорченную ДНК. Если через какое-то время повреждение исправлено, то вызванный p53 блок деления снимается и клетка может вновь размножаться. Однако если повреждение ДНК долго не исправляется, то p53 приговаривает поврежденную клетку к смерти: включает программу апоптоза.

Таким образом, из клеточного общества путем блокирования размножения или апоптоза исключаются клетки с поврежденной ДНК, предотвращается передача потомкам клеток с испорченным геномом и потому резко уменьшается вероятность накопления мутантных клеток. Поэтому p53 называют “сторожем клеточного генома”. Как уже говорилось, во многих, особенно в злокачественных, опухолях имеется дефектный или инактивированный ген p53. Поэтому геном в таких опухолях становится непостоянным: клетки с изменениями ДНК, возникшие по каким-либо причинам, перестают выбраковываться из опухолевой ткани, в ней появляется много клеток с различными мутациями. В частности, накопление мутаций протоонкогенов и антионкогенов способствует отбору клеток с повышенной степенью трансформации, то есть повыше-

нию злокачественности опухоли. Таким образом, мутации p53 сами по себе не нарушают проведения сигналов, но способствуют накоплению клеток с такими нарушениями. Сейчас идет чрезвычайно интенсивное исследование механизмов действия p53 и связанных с ним белков, образующих “систему внутриклеточной безопасности” и охраняющих клетку от порчи генома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как мы видели, развитие опухолей – результат одной или многих мутаций в генах, кодирующих белки, которые контролируют размножение и гибель клеток. При этом для появления патологического белка, активирующего размножение, достаточно доминантной мутации одного из двух протоонкогенов, кодирующих этот белок. Напротив, для прекращения синтеза нормального белка, ограничивающего размножение клеток или вызывающих их гибель, необходима инактивация (рецессивная мутация) обоих кодирующих этот белок антионкогенов (см. рис. 1). Таким образом, успехи биологии опухолей привели к открытию двух сложнейших функциональных систем, контролирующих социальное поведение нормальных клеток, систем проведения сигналов и системы внутриклеточной безопасности. Мы еще очень многого не знаем об этих системах, но уже догадываемся, что и где искать.

Механизмы поведения каждой клетки не проще механизмов поведения целого организма, состоящего из таких клеток. Замечательно, что эти механизмы познаваемы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ченцов Ю.* Общая цитология: (Введение в биологию клетки). 3-е изд. М.: Изд-во МГУ, 1995.
2. *Альбертс А., Брей Д., Льюис Р. и др.* Молекулярная биология клетки: В 3 т.: Пер. с англ. М.: Мир, 1994.

* * *

Юрий Маркович Васильев, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, профессор кафедры вирусологии МГУ, зав. лабораторией Всероссийского онкологического научного центра. Автор 180 научных работ, включая шесть монографий на русском и английском языках.