

## HOW NORMAL CELL IS TRANSFORMED INTO A CANCER ONE

G. P. GEORGIEV

*More than a hundred genes which mutations can enable the transformation of a normal cell to a tumorous one have been discovered. These are oncogenes and tumor suppressor genes. Major classes including such genes are described.*

**Открыто более сотни генов, мутации в которых могут способствовать превращению нормальной клетки в опухолевую – это онкогены и гены-супрессоры опухолей. В статье рассмотрены основные функциональные классы, к которым относятся эти гены.**

## КАК НОРМАЛЬНАЯ КЛЕТКА ПРЕВРАЩАЕТСЯ В РАКОВУЮ

Г. П. ГЕОРГИЕВ

Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова

Рак – это генетическая болезнь, то есть болезнь, связанная с потерей, или повреждением, или активацией, или, наконец, привнесением извне определенных генов. Как известно, ген – это отрезок ДНК, который кодирует тот или иной белок. Последовательность, состоящая из трех нуклеотидов (всего их четыре – А, G, С и Т), кодирует ту или иную аминокислоту, общее число которых равно 20. Последовательность аминокислот в молекуле белка определяет трехмерную пространственную структуру белка и его функцию. Как мы видим, между структурой ДНК (гена) и ее продукта – белка существует прямая связь.

Оказалось, что некоторые вирусы способны в определенных условиях вызывать образование опухолей. Эти вирусы были названы онкогенными вирусами. Вирусы, как правило, содержат очень мало генов – от нескольких генов до нескольких десятков, тогда как в каждой клетке человека присутствует около 100 000 генов. Далее было показано, что из всех генов вируса обычно только один нужен для превращения клетки в опухолевую, то есть для этого нужно появление в клетке лишь одного нового белка. Такие гены были названы онкогенами. У некоторых вирусов это собственные гены вируса (вирусные онкогены), у других вирусов в процессе цикла их развития происходит захват генов хозяина, например генов мыши или человека, и последние выступают в роли онкогенов. Это особенно интересная группа, поскольку в нее входят гены самой клетки, которые функционируют на определенных этапах развития и на их матрице синтезируются нормальные белки.

Возникает вопрос, почему эти нормальные гены начинают индуцировать возникновение опухолей. Есть несколько путей подобной активации онкогена. Прежде всего такая активация может происходить и в вирусе и вне вируса, просто в клетке. Один из путей активации онкогена – структурная мутация, то есть изменение структуры гена, например замена нуклеотида в ДНК, ведущая к замене аминокислоты в белковой цепи и к изменению функции белка. Другой путь – это усиление активности онкогена, то есть усиление синтеза матричных РНК на матрице ДНК и в итоге усиление синтеза белкового продукта онкогена и его накопление в клетке. Активация онкогена может быть результатом увеличения числа копий данного гена в геноме или следствием

такой перестройки генома, когда рядом с потенциальным онкогеном появляется новый регуляторный элемент, обеспечивающий его более активную транскрипцию, то есть синтез матричной РНК. Есть и другие способы активации онкогена. Число известных онкогенов непрерывно растет и уже перевалило за 100.

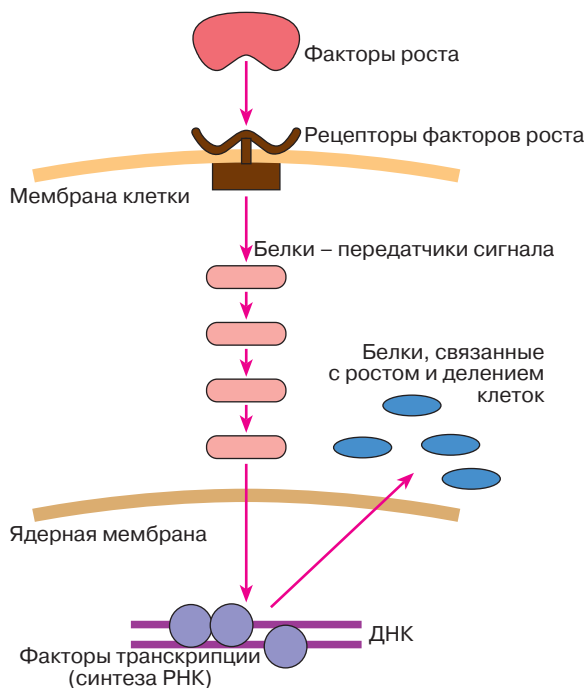
Вскоре после открытия первых онкогенов появились сообщения о существовании генов, утрата или подавление активности которых также приводит к развитию опухолей. Иными словами, белковые продукты этих генов необходимы для того, чтобы не дать клетке превратиться в раковую. Эти гены были названы антионкогенами или генами-супрессорами опухолей (ГСО). Число известных ГСО тоже быстро растет, хотя и уступает числу открытых онкогенов. Итак, есть гены, белковые продукты которых помогают нормальной клетке превратиться в раковую, и гены, белковые продукты которых этому препятствуют. Возникает центральный вопрос, какова природа белковых продуктов онкогенов и ГСО. Оказалось, что она чрезвычайно разнообразна. Основные классы генов и их белковых продуктов, которые могут выступить в роли онкогенов или ГСО, приведены в табл. 1.

Чтобы клетка начала расти и размножаться, нужны специальные сигналы, вырабатываемые обычно другими клетками, а иногда и самой клеткой. Это обычно белковые молекулы, называемые факторами роста (рис. 1). Их производство строго регулируется, но если происходит нарушение регуляции, то факторы могут накапливаться в больших количествах. Они начинают сигнализировать клетке о необходимости расти и делиться. Поэтому некоторые гены, кодирующие факторы роста, могут выступать в роли онкогенов.

Чтобы фактор подействовал, необходим рецептор для данного фактора, расположенный на поверхности клетки-мишени. Когда фактор присоединяется к рецептору, последний активируется, что может в ряде случаев выразиться в ферментативной реакции, например фосфорилировании определенных белков. При некоторых повреждениях рецепторов факторов роста они обретают свойства “зажигаться” при отсутствии своего фактора роста. Такой рецептор будет непрерывно передавать сигнал о необходимости начинать рост, хотя фактор роста и отсутствует. Поврежденный ген, кодирующий такой измененный фактор роста, может выступать в роли онкогена.

Таблица 1. Онкогены и гены-супрессоры опухолей

Природа гена/белка	Ген/белок (примеры)	Локализация опухоли (примеры)
Факторы роста	PDGF	Глиомы, саркомы
Рецепторы	TGF- $\alpha$ erb-B erb-B2	Многие опухоли Глиобластомы, рак груди Рак груди, яичников, слюнных желез
Передача сигнала	Ki-ras N-ras	Рак легких, яичников, кишечника и другие лейкемии
Факторы активации транскрипции	c-myc N-myc L-myc	Лейкемии, рак груди, желудка, легких Нейробластомы, глиобластомы
Факторы блока	TGF- $\beta$	Рак кишечника
Передачики и блокаторы передачи	DPC-4 NF-1	Рак поджелудочной железы Лейкемии, рак периферической нервной системы
Контроль клеточного цикла	cyclins D, E p15 p16 pRB	Рак груди Разные опухоли Меланома Ретинобластома, остеосаркома (наследств.)
Апоптоз	p53	Многие опухоли (1/2 всех) (наследств.) Многие опухоли (1/2 всех) (наследств.)
Бессмертие	Bcl-2	Разные опухоли
Другие гены-супрессоры опухолей	Теломераза APC BRCA1, BRCA2	Разные опухоли Рак кишечника (наследств.) Рак груди (наследств.)
Репарация ДНК	Гены репарации ATM	Рак кишечника, ксеродерма (наследств.) Рак груди (наследств.)



**Рис. 1.** Основные этапы передачи сигнала для роста от мембраны до клеточного ядра

Передача сигнала на рост не ограничивается факторами роста и их рецепторами. В передаче такого сигнала участвует много других белков – передатчиков сигнала. Это своего рода клеточное реле. Такая передача часто идет путем фосфорилирования одним белком второго, вторым третьего и т.д. Гены, кодирующие участников этих цепей, могут выступать в роли онкогенов.

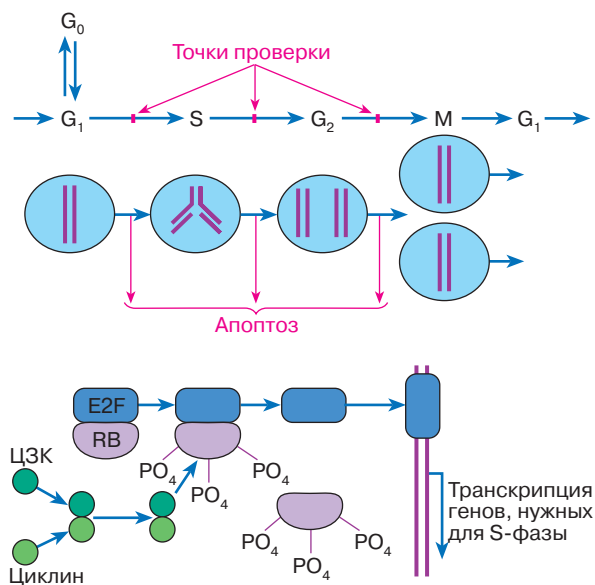
Цепи передачи сигналов заканчиваются в клеточном ядре. Там происходит активация так называемых факторов транскрипции, то есть белков, связывающихся с регуляторными участками определенных генов в ДНК и активирующих транскрипцию данных генов. Иными словами, под действием факторов транскрипции на соответствующих генах происходит синтез матричных РНК, а на матрице последних – белков. Это те белки, которые нужны для роста и размножения клеток. И снова среди генов, кодирующих факторы транскрипции, оказываются онкогены. Если соответствующий ген работает с высокой активностью независимо от описанной выше регуляторной цепи, то он способствует превращению нормальной клетки в опухолевую (см. рис. 1).

Итак, многие гены, кодирующие белки передачи сигнала для роста и размножения клеток, являются потенциальными онкогенами. В отлаженной системе нормальной клетки они обеспечивают строго регулируемые рост и размножение, но при

повреждении или нерегулируемой активации этих генов клетки превращаются в раковые.

Превращению нормальной клетки в опухолевую противостоят другие системы. Одна из них – это цепь передачи сигнала для подавления клеточного роста от поверхности клетки к ядру. Эти цепи состоят из компонентов, подобных описанным выше, но имеющих противоположный знак действия, то есть их действие реализуется в подавлении транскрипции генов, необходимых для роста и размножения клеток. Некоторые гены, продукты которых участвуют в таком процессе, были идентифицированы как ГСО, их инактивация индуцировала преобразование клеток в опухолевые.

Важный механизм, препятствующий превращению нормальной клетки в опухолевую, – это механизм “проверки в ходе клеточного цикла” (рис. 2). Размножаясь, клетки проходят через несколько фаз клеточного цикла. Важнейшие фазы – это деление клеток или митоз (M); фаза, предшествующая синтезу ДНК (G<sub>1</sub>); фаза репликации или синтеза ДНК (S), когда происходит удвоение генетического материала; следующая за ней фаза подготовки к делению



**Рис. 2.** Точки проверки клеточного цикла. В верхней части рисунка – основные стадии клеточного цикла и их связь с делением ДНК. При повреждении ДНК или других нарушениях клетка или исправляет их (репарация ДНК), или входит в апоптоз, погибает. В нижней части рисунка – один из механизмов прохождения через точку проверки между фазами G<sub>0</sub> и S. Белок Rb связывает фактор транскрипции E2F и не дает ему активировать транскрипцию генов, нужных для перехода в фазу S. Циклин взаимодействует с циклинзависимой киназой (ЦЗК), которая активируется и фосфорилирует Rb, из-за чего он теряет связь с E2F. E2F освобождается, связывается с ДНК и начинает активировать нужные для S-фазы гены

(G<sub>2</sub>) и снова митоз (M). Кроме того, клетки могут переходить из G<sub>1</sub> не в S, а в фазу G<sub>0</sub> или фазу покоя, когда деление клеток отсутствует.

Оказалось, что переход из одной фазы клеточного цикла в другую — это строго регулируемый процесс. На определенных этапах клеточного цикла существуют “точки проверки”, во время которых специальные белки определяют, все ли в клетке в порядке и готова ли она к переходу в следующую фазу цикла. Например, если в клетке повреждена ДНК, об этом идет сигнал и переход в следующую фазу блокируется. Или, например, в клетке синтезируются не те белки, которые должны синтезироваться на данном этапе. Опять идет сигнал о блокаде перехода в следующую фазу. Очень важной точкой проверки является точка между G<sub>1</sub> и S, поскольку именно в фазе S происходит удвоение генетического материала ДНК и становится возможным последующее деление клетки.

Ясно, что такая система проверки требует большого количества специальных белков. Ключевая роль в разрешении на продвижение по циклу принадлежит белкам семейства циклинов. Последние связываются со специальными ферментами, фосфорилирующими белки, циклинзависимыми киназами (ЦЗК). Только находясь в комплексе с циклинами, ЦЗК начинают фосфорилировать свои белки-мишени, и это, в свою очередь, активирует гены, продукты которых нужны на следующей фазе цикла.

Многие гены, кодирующие белки — участники этой системы контроля, выступают в роли онкогенов или ГСО. Гены, кодирующие белки, помогающие клетке беспрепятственно пройти через цикл, выступают в роли онкогенов. Гены, кодирующие белки, которые блокируют прохождение клетки через точки проверки, выступают в роли ГСО. Как бы то ни было, недостаточно только запустить сигнализацию о необходимости роста и размножения клеток, надо еще сломать системы проверки.

Что же происходит с клеткой, которая остановилась в своем движении по клеточному циклу в точке проверки, например из-за того, что в ней оказалась повреждена ДНК. Первый путь — это устранение повреждений ДНК с помощью специальных ферментов. Если такая “репарация ДНК” не произойдет, то остановленная в своем продвижении по циклу клетка вступает на путь “программированной смерти”, которая обозначается термином “апоптоз”. Приходят в действие специальные клеточные системы, которые разрушают ее жизненно важные структуры, в том числе хромосомы, и клетка умирает. Апоптоз играет большую роль в развитии организма, ибо таким путем устраняются ненужные клетки. Таким же способом устраняются клетки, которые получили повреждения и резко изменили свои свойства, — различные мутантные клетки. Именно эти механизмы устраняют многие

клетки, приобретшие черты раковых. Они сами себя убивают.

Как и другие перечисленные процессы, апоптоз определяется большим числом белков. Одно из центральных мест занимает ген, кодирующий белок p53, — белок с молекулярным весом около 53 000. Этот белок включает апоптоз не только если в ДНК появляются повреждения, но и во многих других случаях. Наряду с белками, включающими апоптоз, есть белки, препятствующие апоптозу, и между теми и другими существует тонкий баланс. Апоптоз выступает в роли мощного защитника от превращения нормальной клетки в раковую. Гены, способствующие апоптозу, относятся к ГСО, а гены, ему препятствующие — к онкогенам.

Поломка процесса апоптоза резко облегчает клетке превращение в раковую. В неспособных к апоптозу клетках легко будут накапливаться различные повреждения ДНК, ведущие к появлению мутаций. Среди этих мутаций будут встречаться мутации, активирующие онкогены и подавляющие ГСО. Клетки с такими мутациями приобретут преимущества в отношении роста и размножения перед своими собратьями и начнут разрастаться.

На их пути к окончательному приобретению независимости и превращению в раковые клетки стоит еще одна преграда — ограничение числа клеточных делений в нормальных клетках в связи с укорочением концов хромосом или теломеров. На концах хромосом расположены особым образом устроенные отрезки ДНК или теломеры. При каждом делении длина теломера уменьшается. Когда их длина падает до критической величины, начинаются слипание концов хромосом, дезорганизация генома и гибель клеток. Поэтому если посеять на чашках клетки человека, то они примерно через 50 делений погибнут — иными словами, в культуре клеток существует предел для размножения клеток, зависящий от утраты теломеров. Нормальные клетки человека и других животных в культуре смертны. Однако у человека и других видов есть клетки, функцией которых является размножение и поддержание нужного уровня числа клеток в организме. У этих клеток потеря теломеров не происходит благодаря тому, что в них есть фермент теломеразы, восстанавливающий исходные размеры теломеров. В более зрелых клетках, из которых обычно происходят опухолевые клетки, теломеразы утрачиваются, ген для нее сохраняется, но он молчит.

Большинство опухолевых клеток в культуре клеток не погибает, а продолжает расти в течение бесконечно длительного времени, пока им предоставляется свежая среда. Они становятся бессмертными. Одновременно эти клетки содержат активный фермент теломеразы, то есть в них ген теломеразы работает. Следовательно, ген теломеразы выступает в роли еще одного онкогена, позволяющего опухолевым клеткам благодаря его активации приобретать



бессмертие. Следует отметить, что в некоторых опухолевых клетках существуют и другие механизмы приобретения бессмертия.

Это основные, хотя и не все классы онкогенов и ГСО, участвующие в превращении нормальной клетки в опухолевую. Кроме перечисленных генов и их белковых продуктов, для которых установлена функция, открыто еще много онкогенов, и особенно ГСО, для которых функция еще не установлена. Поэтому можно ожидать появления новых функциональных групп среди ГСО и онкогенов. Как бы то ни было, видно, что громадное число генов, тем или иным способом связанных с контролем роста и размножения клеток, при своих изменениях (мутациях) могут способствовать превращению нормальной клетки в опухолевую.

Важным открытием явилось установление факта, что, как правило, активации одного онкогена или, наоборот, потери функции одного ГСО недостаточно для превращения нормальной клетки в опухолевую. Это понятно в свете приведенных данных о наличии разных барьеров, стоящих на пути такого превращения. В среднем подсчитано, что в случае клеток человека число таких мутационных событий составляет в среднем 10. Только при этом нормальная клетка становится раковой. У мышей, на которых ведется большинство экспериментов по индукции опухолей, этот барьер снижен — там необходимо 3–5 мутационных событий.

Поскольку онкогенов и ГСО чрезвычайно много, то и набор мутаций в различных опухолях человека весьма разнообразен. В одних опухолях активированы или подавлены одни гены, в других — другие. Каждая опухоль, таким образом, имеет свой генетический портрет, который и определяет ее свойства. Более того, опухоль часто гетерогенна, то есть в ней есть клетки с разным набором генетических изменений.

Это создает крайне сложную и запутанную картину, когда речь заходит об анализе механизма возникновения какой-либо конкретной опухоли человека. Особенно важно, что это многообразие и гетерогенность сильно ограничивают возможности разработки терапии опухолей на основе знания произошедших в ней генетических изменений. Ситуация несколько облегчается тем, что некоторые ГСО или онкогены оказываются измененными гораздо чаще, чем другие. Так, например, ГСО, кодирующий белок p53, поврежден примерно в 50% всех опухолей человека, а онкоген *ras* содержит активирующую его мутацию примерно в четверти всех опухолей человека. Некоторые другие ГСО и онкогены изменены преимущественно в опухолях той или иной локализации.

Как отмечено выше, p53 играет важную роль в направлении клеток с поврежденной ДНК по пути апоптоза. Когда ген p53 выведен из строя, клетки с поврежденной ДНК (мутантные клетки) перестают

выбраковываться и в них происходит накопление новых мутаций, которые могут затрагивать ГСО и онкогены. Поэтому повреждение p53 резко ускоряет аккумуляцию других изменений и дефект p53 наблюдается в опухолях очень часто.

В заключение остановимся на роли наследственной, вирусной и экологической компонент в развитии опухолей человека. Как правило, рак развивается у людей пожилого и старого возраста. Это связано с тем, что мутации в генах возникают случайно и вероятность накопления в клетке нужного для онкогенного превращения набора мутаций весьма низка — для этого требуются многие годы. Не последнюю роль играет и ослабление с возрастом иммунных систем организма, которые препятствуют выживанию опухолевых клеток.

Однако в некоторых случаях, обычно в определенных семьях, опухоли развиваются у людей более молодого возраста. Оказалось, что в этих случаях уже исходно во всех клетках организма в одном из онкогенов или ГСО имеется мутация. Тогда на ее фоне дальнейшее накопление мутаций, необходимых для превращения нормальной клетки в раковую, происходит быстрее и опухоли развиваются с гораздо большей частотой и в более раннем возрасте. Некоторые из таких мутаций предопределяют раннее развитие опухолей практически со 100%-ной вероятностью. Например, если у человека исходно поврежден ГСО *rb*, играющий важную роль в процессе контроля прохождения клетки через клеточный цикл, у него всегда развиваются опухоли сетчатки (ретинобластомы). Подобные наследуемые повреждения изучают, значительная часть их известна, а другие будут выявлены в ближайшие годы. Тогда с помощью предродовой генной диагностики с последующим абортom (в случае передачи плоду поврежденного гена) наиболее вредные мутации можно будет полностью вывести из человеческой популяции.

Другой часто обсуждаемый фактор — эпидемиологический. Поскольку опухоль — генетическая болезнь, она незаразна. Но, как отмечалось выше, имеются вирусы — носители онкогенов. ДНК таких вирусов, или их генетический аппарат, может встраиваться в геном клетки, где развивается вирус и таким образом в этих клетках появится активный онкоген. Например, вирус папилломы человека, передаваемый половым путем, вносит в геном клетки хозяина ген, белковый продукт которого связывается с белком p53 и его инактивирует. Результат тот же, что и при повреждении гена p53, опухоль непосредственно не возникает, но вероятность ее появления резко возрастает. Таким образом, некоторые вирусы, привнося в клетки новые онкогены, могут повышать вероятность возникновения рака у данного индивидуума.

Что касается роли негативных факторов внешней среды, ее загрязнение различными химикатами,

то здесь ситуация тоже ясная. Большинство этих загрязнений обладает мутагенной активностью, то есть в их присутствии возрастают число мутаций в клетках организма и вероятность появления того набора мутаций, который приведет к онкогенному перерождению клеток. Естественно, что полностью от мутагенов избавиться нельзя: к ним относятся и солнечная иррадиация, и космические излучения. Но при хорошем контроле за уровнем загрязнения внешней среды вероятность повышения частоты мутаций естественно снижается.

Такова в настоящее время общая картина механизма превращения нормальной клетки в опухолевую. Основные принципы понятны, участники процесса раскрыты, но конкретные механизмы развития каждой отдельной опухоли различны, и полную картину этих изменений сегодня дать невозможно, а возможно, в этом и нет необходимости. Однако проблема рака остается нерешенной и требует новых и новых усилий. Хотя полученная информация позволяет уже сейчас предупреждать развитие некоторых видов опухолей, эта информация

недостаточна для развития методов эффективной терапии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Lewin B.* Genes for SMA: Multum in Parvo // *Cell*. 1995. Vol. 80(1). P. 1–5.
2. *Lewin B.* The Best of Molecular Biology // *Mol. Cell*. 1997. Vol. 1(1). P. 1.
3. *Lewin B.* The Mystique of Epigenetics // *Cell*. 1998. Vol. 93(3). P. 301–303.

\* \* \*

Георгий Павлович Георгиев, доктор биологических наук, профессор, действительный член РАН, директор Института биологии гена РАН, лауреат Ленинской премии, Государственных премий СССР и РФ, член пяти зарубежных академий. Область научных интересов – молекулярная генетика высших организмов. Автор одной монографии и 400 научных работ.