

УДК 618.11-006.6:616.381-008.8—091.8  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-122-133>

## Стволовые свойства опухолевых клеток асцитической жидкости у больных раком яичника: ключ к управлению распространением процесса

Ковалев О.И.<sup>1,2</sup>, Вторушин С.В.<sup>1,2</sup>, Кайгородова Е.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

Рак яичника принято рассматривать как наиболее злокачественную и агрессивную опухоль женской репродуктивной системы, что во многом связано с ранним развитием злокачественного асцита и перитонеального канцероматоза. Опухолевые клетки, представляющие первичный очаг, а также содержащиеся в составе асцитической жидкости, крайне гетерогенны с морфологической, иммуногистохимической и молекулярно-генетической позиций. Значимую роль в процессах самообновления опухоли, ее дифференцировки, метастазирования и развития химиорезистентности играют опухолевые стволовые клетки.

Настоящий обзор направлен на обобщение имеющихся данных о стволовых опухолевых клетках рака яичников и их роли в опухолевой прогрессии. При написании обзора проведен биоинформационный поиск в универсальных базах данных PubMed, NCBI, Google Scholar и eLibrary с применением следующих ключевых слов для поиска: cancer stem cells, ovarian cancer, malignant ascites, hemoresistance и т.п.

Представленные данные позволяют всесторонне охарактеризовать роль стволовых свойств опухолевых клеток рака яичника. Изложена актуальная информация о молекулярно-биологических параметрах стволовых опухолевых клеток рака яичника, представляющих клеточный компонент злокачественного асцита, с приведением данных собственных исследований. Отражены современные представления о механизмах формирования клеточных сфероидов и их вкладе в прогрессирование опухолевого процесса.

Опухолевые стволовые клетки являются крайне перспективной мишенью в создании будущих терапевтических стратегий, основанных на изучении сигнальных путей в стволовых клетках рака яичников, механизмах образования сфероидов, а также вкладе иммунных клеток в приобретение стволовых свойств опухоли.

**Ключевые слова:** рак яичника, опухолевые стволовые клетки, злокачественный асцит, опухолевые сфериды, химиорезистентность

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Ковалев О.И., Вторушин С.В., Кайгородова Е.В. Стволовые свойства опухолевых клеток асцитической жидкости у больных раком яичника: ключ к управлению распространением процесса. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):122–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-122-133>.

# Stem cell properties of cancer cells in ascitic fluid of patients with ovarian cancer: a key to control over cancer progression

Kovalev O.I.<sup>1,2</sup>, Vtorushin S.V.<sup>1,2</sup>, Kaigorodova E.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

<sup>2</sup> Siberian State Medical University 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

## ABSTRACT

Ovarian cancer is considered to be the most malignant and aggressive tumor of the female reproductive system, which is largely associated with early development of malignant ascites and peritoneal carcinomatosis. Cancer cells representing the primary focus, as well as those contained in the ascitic fluid, are extremely heterogeneous in terms of morphological, immunohistochemical, and molecular genetic aspects. Cancer stem cells play a significant role in tumor self-renewal, differentiation, metastasis, and development of chemoresistance.

This literature review is aimed at summarizing the available data on cancer stem cells in ovarian cancer and their role in tumor progression. A bioinformatic search was carried out in the PubMed, NCBI, Google Scholar, and eLibrary databases using the keywords “cancer stem cells”, “ovarian cancer”, “malignant ascites”, “chemoresistance”, etc.

The data presented in the review make it possible to comprehensively characterize the role of stem cell properties of ovarian cancer cells. The review presents up-to-date information on the molecular and biological parameters of cancer stem cells in ovarian cancer, which are the cellular component of malignant ascites, as well as data from the authors' studies. Along with this, the article describes modern ideas about the mechanisms of formation of cellular spheroids and their contribution to cancer progression.

Cancer stem cells are an extremely promising target in the development of future therapeutic strategies based on the study of signaling pathways in ovarian cancer stem cells, the mechanisms of spheroid formation, and the contribution of immune cells to the acquisition of cancer stem cell properties.

**Keywords:** ovarian cancer, cancer stem cells, malignant ascites, tumor spheroids, chemoresistance

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Kovalev O.I., Vtorushin S.V., Kaigorodova E.V. Stem cell properties of cancer cells in ascitic fluid of patients with ovarian cancer: a key to control over cancer progression. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):122–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-122-133>.

## ВВЕДЕНИЕ

Рак яичника (РЯ) является крайне злокачественной и наиболее агрессивной опухолью среди всех неоплазий органов женской репродуктивной системы, сопровождается ранним развитием злокачественного асцита с метастатическим распространением опухоли по органам брюшной полости [1]. Современная «теория опухолевых стволовых клеток» постулирует, что стволовые клетки опухоли ответственны за процессы самообновления, ее дифференцировку, метастазирование и развитие резистентности к химиотерапии. По своей природе опухолевые стволовые клетки обладают способностью

к симметричному и асимметричному делению с последующей дифференцировкой опухолевого субклона (субклонов), тем самым устанавливая как фенотипическую, так и функциональную гетерогенность в иерархической организации опухолей [2]

## МАРКЕРЫ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

Необходимо отметить, что идентификация стволовых свойств опухолевых клеток у онкологических пациентов довольно проблематична ввиду отсутствия универсального маркера или панели маркеров. В настоящее время существует широкое разнообра-

зие белков, экспрессия которых расценивается как признак стволовых свойств в данных клетках (таблица).

Т а б л и ц а

Маркеры опухолевых стволовых клеток при раке яичника		
Наименование маркера	Описание	Источник
CD133 (проминин-1)	Гликозилированный трансмембранный белок	[3]
CD44	Рецептор гиалуроновой кислоты	[4, 5]
CD24	Лиганд Р-селектина	[6]
CD177	Рецептор тиразинкиназы III типа	[7]
MyD88	Цитозольный адаптерный белок, содержащих домен TIR	[8–10]
ErCAM	Кальций-независимая гомофильная молекула адгезии эпителиальных клеток	[11]
ALDH1	Фермент, катализирующий окисление альдегидов до карбоновых кислот	[12, 13]
CXCR4	Рецептор хемокина CXCL12	[14–16]
NANOG	Транскрипционный фактор	[17–19]
SOX2	Транскрипционный фактор	[20, 21]
OCT4	Транскрипционный фактор	[22]

Ряд маркеров клеточной поверхности оказался полезным для выделения субпопуляций опухолевых стволовых клеток (ОСК) яичников, включая CD133+ [23, 24], CD133+ ALDH+ [25], CD44+ CD117+ [7], ErCAM [26].

ErCAM, кальций-независимая гомофильная молекула адгезии эпителиальных клеток, является трансмембранным гликопротеином I типа, экспрессирующимся частью субпопуляций клеток нормального эпителия и многочисленными стволовыми клетками, в том числе стволовыми опухолевыми клетками при карциноме яичника [11, 27]. *In vivo* показано, что ErCAM-позитивные опухолевые клетки, изолированные от остальной клеточной популяции карциномы яичника, обладают большим туморогенным потенциалом в сравнении с ErCAM-негативными опухолевыми клетками [28].

CD133 является гликозилированным трансмембранным белком, кодируемым геном *PROM1*, физиологическая функция которого на сегодняшний день не является в полной мере изученной. Однако показано, что данный рецептор активно участвует в процессах модулирования распространения и развития лекарственной устойчивости опухоли. CD133 является одним из наиболее изученных маркеров стволовых опухолевых клеток рака яичника, карцином кишки, предстательной железы, легких [3]. Y.J. Lee и соавт. (2016) продемонстрировали корреляцию экспрессии CD133 со степенью дифференцировки опухоли. Средний балл экспрессии CD133 в опухолях III степени злокачественности (High-grade)

был значительно выше, чем в опухолях I степени (low-grade) [5].

ALDH1 входит в семейство ферментов, катализирующих окисление альдегидов до карбоновых кислот. Метаболическая активность данного фермента обнаружена методом ALDEFLUOR при идентификации стволовых опухолевых клеток в ряде опухолей солидного строения. Высокая экспрессия ALDH1 в значительной степени связана с плохими клиническими исходами у пациентов с серозным раком яичников. В настоящее время ALDH используется в качестве маркера опухолевых стволовых клеток при раке яичника [12, 13].

CD44 функционирует как рецептор гиалуроновой кислоты и многих других компонентов внеклеточного матрикса, ответствен за процессы межклеточных взаимодействий, адгезию и клеточную миграцию. Накопленные данные свидетельствуют о том, что CD44, особенно изоформы CD44v, являются маркерами стволовых клеток при различных опухолях, включая карциномы яичника, а также играют важную роль в регуляции стволовых свойств, включая самообновление, инициацию опухоли, метастазирование и химиолучевую устойчивость. Кроме того, имеется достаточно доказательств того, что экспрессия CD44, особенно изоформа CD44v, коррелирует с низкой выживаемостью пациентов. Это достоверно является неблагоприятным прогностическим маркером. В свою очередь, изоформа CD44v может оказаться перспективной мишенью для таргетной терапии [4, 5].

CD24 является лигандом Р-селектина, рецептора адгезии на активированных эндотелиальных клетках. Часто коэкспрессируется в стволовых CD44 и CD133-позитивных клетках карцином яичника. Опухолевые клетки, экспрессирующие CD24, обладают более высоким метастатическим потенциалом в сравнении с CD24-негативными популяциями клеток. Важной ролью CD24 является индукция EMT, приводящего к формированию высокопролиферативного мезенхимального фенотипа опухолевых клеток, а также развитию лекарственной устойчивости опухоли посредством активации PI3K/Akt, NF-κB и ERK сигнальных каскадов [29].

Недавние исследования асцитической жидкости больных раком яичника методом многоцветной проточной цитометрии показали, что клеточный состав асцитической жидкости представляет собой гетерогенную популяцию. Большую концентрацию асцитических опухолевых клеток представляют собой атипичные/гибридные формы клеток с признаком стволовости, а также стволовые опухолевые клетки ErCAM+CD45-CD44+CD24+CD133+/- как с признаком EMT, так и без него [30]. Кроме это-

го, нами было выявлено, что количество опухолевых клеток в асцитической жидкости с фенотипами Epcam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ и Epcam+CD45-CD44-CD24+CD133+Ncadherin+, а также количество атипичных/гибридных форм Epcam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/- клеток имеют положительную корреляционную связь с индексом канцероматоза [31]. Следует отметить, что данные клетки являются CD24-положительными.

MyD88 – это цитозольный адаптерный белок, содержащий домен TIR, участвующий в передаче сигнала от Toll-like-рецепторов. Активация TLR4/MyD88/NF-κB сигнального пути усиливает агрессивный фенотип опухоли и ухудшает клинический исход у больных эпителиальным раком яичников. Экспрессия данного белка часто обнаруживается в стволовых опухолевых клетках [8–10].

CD177 – это рецептор тиразинкиназы III типа, активирует процессы фосфорилирования, инициируя процессы транскрипции в различных типах клеток. Участвует в регуляции процесса апоптоза, дифференцировки, пролиферации, хемотаксисе и клеточной адгезии. Широко экспрессируется в гемопозитических стволовых клетках, миелоидных клетках-предшественниках, про-B-клетках, прогениторных клетках, а также в опухолевых стволовых клетках [7].

CXCR4 является хемокиновым рецептором. Опосредует хемотаксис клеток в ответ на связывание хемокина CXCL12. Используется в качестве одного из маркеров опухолевых стволовых клеток рака яичника. Предполагается, что CXCR4 связан с индукцией процесса метастазирования рака яичников, а также плохой общей выживаемостью пациентов [14–16].

NANOG, как фактор транскрипции, является одним из наиболее важных маркеров, используемых для идентификации ОСК. Сообщается, что мРНК NANOG была обнаружена в плюрипотентных стволовых клетках мыши и человека, но не в дифференцированных клетках (Chambers и соавт., 2003). Известно, что экспрессия NANOG статистически выше в опухолевых стволовых клетках, в сравнении с опухолевыми клетками, не обладающими признаками стволовости. NANOG ответствен за процессы морфофункциональной пластичности и самообновление эмбриональных стволовых клеток посредством взаимодействия с другими факторами транскрипции, такими как SOX-2 и Oct-4. Эти гены прикрепляются к элементам octamer/sox в промоторной области NANOG, что приводит к активации транскрипции Nanog (Rodda и соавт., 2005). Установлено, что NANOG поддерживает характеристики

ОСК посредством активации различных сигнальных путей, включая TGIF-β, Wnt/β-catenin, JAK/STAT, Notch и Hedgehog (Alemohammad и соавт., 2020). Гиперэкспрессия NANOG обнаружена в опухолях из эмбриональных клеток, что коррелирует с клеточной пролиферацией, рецидивом опухоли, клональным опухолевым ростом, онкогенностью, инвазивностью и резистентностью к таким видам лечения, как химиотерапия и лучевая терапия [17–19].

SOX2 является членом семейства факторов транскрипции SOXB1, и его три основных домена представляют собой N-концевой домен, домен группы высокой подвижности (HMG) и домен трансактивации. SOX2 является важным маркером ОСК. Отмечено, что SOX2 сверхэкспрессируется в сфероидов, а также клетках последующих поколений опухолевых клеток сфероидов. Экспрессия SOX2 тесно связана с химиорезистентностью и плохим прогнозом у пациентов с РЯ [20, 21].

Транскрипционный фактор Oct4 экспрессируется в эмбриональных стволовых клетках, а также в стволовых клетках рака яичников [22].

Благодаря анализу ключевых генов, связанных со стволовостью в субпопуляциях опухолевых стволовых клеток, были найдены новые перспективные маркеры, тесно связанные с развитием карциномы яичника: LCP2, FCGR3A, COL1A1, COL1A2, MTSYB, CCT5 и PAPA [32].

## РЕГУЛЯЦИЯ СТВОЛОВЫХ СВОЙСТВ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКА

В настоящее время описано множество механизмов регуляции стволовых свойств клеток карциномы яичника. S. Bai и соавт. (2021) показали, что лиганд 6, подобный эпидермальному фактору роста (EGFL6), который действует как регуляторный фактор стволовых клеток, способствует асимметричному делению ALDH-положительных стволовых клеток рака яичников и тем самым увеличивает пролиферацию опухолевых клеток *in vitro* и рост опухоли *in vivo* [33]. Фактор EIF5A2 положительно регулирует стволовость клеток рака яичников через путь E2F1/KLF4 [34]. Сигнальный путь L1CAM/FGFR1/SRC/STAT3 рассматривается как новый драйвер стволовости при раке яичника. Показано, что L1CAM потенцирует некоторые свойства, связанные со стволовостью, в клетках рака яичника, включая образование сфероидов и инициацию опухоли *in vivo* [35]. FOXK2-управляемая активация IRE1α приводит к альтернативному сплайсингу XBP1 и активации путей стволовости SOX2, OCT4, NANOG и ALDH1A1 [36].

Интересно, что фенотип ОСК регулируется и опухолевым микроокружением. Так, показано, что

повышенный уровень NF-κB сигналинга приводит к усилению активности Wnt-сигнального пути. Это, в свою очередь, приводит к дедифференцировке опухолевых клеток, не имеющих стволового фенотипа, с последующей их трансформацией в клетки, обладающие чертами стволовости [37]. В гетеросфероидах, включающих поляризованные CD206+ M2 макрофаги, отмечается повышенная активность альдегиддегидрогеназы (ALDH), что подразумевает взаимодействие опухолевых стволовых клеток с макрофагами, способствующее активации опухолевых клеток, а также самообновлению пула ОСК [38].

Факторы, секретируемые клетками микроокружения, могут способствовать приобретению опухолевыми клетками, не имеющими признаков стволовости, черт им характерным, например KIT лиганд и R-спондин как лиганды для CD117 [39] и LGR5 [40], соответственно.

### ОТДЕЛЬНЫЕ КЛЕТКИ СО СТВОЛОВЫМИ СВОЙСТВАМИ В СОСТАВЕ АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

Исследование С.О. Генинг и соавт. (2021), в котором изучались популяции стволовых клеток в асците, показало, что 95,5% стволовых клеток имеют фенотип CD44+/CD133- и 4,5% – CD44-/CD133+. Популяция CD44+/CD133+ клеток являлась минорной и составляла около 0,2% [41]. В работе других авторов клетки асцита с высоким уровнем экспрессии CD44 и CD133, полученные от больных раком яичников, обладали большим потенциалом к самообновлению и длительной пролиферации [42–45].

Кокэкспрессия CD133 и CD44, а также экспрессия каждого маркера по отдельности была самой высокой в опухолевых клетках, входящих в состав асцитической жидкости первичного рака яичника человека. Кроме того, экспрессия CD97, CD104, CD107a, CD121a и CD307c была значительно более выраженной и распространенной в опухолевых клетках злокачественного асцита, имеющих фенотип CD133+CD44+, чем в клетках первичной опухоли или метастатических опухолях яичников [5]. В исследованиях М. Jäger и соавт. (2012) двойное окрашивание клеток асцита в образцах, полученных методом цитоспин, выявило наличие CD133+/EPCAM+ клеток у 100% исследуемых пациентов [46].

Экспрессировать маркеры стволовости могут не только классические опухолевые клетки, но и гибридные, также обнаруживаемые в асцитической жидкости. Их наличие характерно для карциномы яичника. В работе М.З. Akhter и соавт. (2018) говорится, что вся популяция EPCAM+CD45+ является высокоинвазивной и состоит из субпопуляций стволовых кле-

ток рака яичников (CD133+ и CD117+CD44+) [47]. Другим поразительным выводом данного исследования является то, что фенотипы ОСК в первую очередь ограничены компартментом EPCAM+CD45+. Это не позволяет отрицать существующую гипотезу о том, что ОСК возникают вследствие нарушения регуляции тканеспецифических стволовых клеток [48].

Похожие результаты получены в исследованиях Е.В. Кайгородовой и соавт. (2020), выявившие большую гетерогенность EPCAM+ клеток в асцитической жидкости больных раком яичником, большую концентрацию которых представляли собой атипичные/гибридные формы EPCAM+CD45+ клетки с признаком стволовости [30, 49]. Кроме того, показана положительная корреляционная связь между количеством EPCAM+CD45+ клеток с признаками стволовости в асцитической жидкости и индексом распространенности канцероматоза у больных раком яичников [31]. Также выявлено, что количество атипичных/гибридных EPCAM+CD45+ клеток в асцитической жидкости у больных с пограничными опухолями яичников значительно ниже, чем у больных с серозными карциномами яичников ( $p = 0,02$ ) [50]. В обзоре Е.В. Кайгородовой и соавт. (2022) предложены теории образования гибридных опухолевых клеток, их разновидности и характеристики, показана роль SAML (атипичных гибридных опухолевых клеток, похожих на макрофаги) и СНС (циркулирующих гибридных клеток) как биомаркеров опухолевых заболеваний [51].

Наиболее полное и комплексное исследование клеток асцитической жидкости у больных раком яичника проведено В. Izar и соавт. (2020) [52]. Всесторонне характеризуя экосистему асцита при HGSOС (низкодифференцированных серозных карциномах яичника), авторами проведено РНК-секвенирование (scRNA-seq) отдельных клеток (примерно 11 тыс. клеток) из 22 образцов асцита 11 пациентов РЯ. Было аннотировано 18 различных клеточных кластеров, охватывающих эпителиальные клетки (пять кластеров, маркируемые EPCAM, цитокератинами, калликреинами), макрофаги (четыре кластера, маркируемые CD14, AIF1, CSF1R, CD163), опухоль-ассоциированные фибробласты (CAFs) (четыре кластера, маркируемые PDPN, DCN и THY1), дендритные клетки (два кластера, маркируемые CD1C, CD1E, CCR7, CD83), В-клетки (CD19, CD79A/B), Т-клетки (CD2, CD3D/E/G) и эритроциты (GATA1, гемоглобин). Среди пяти опухолевых кластеров проведено определение сигнальных путей, которые различаются в злокачественных клетках каждого пациента. Один кластер клеток содержал ярко выраженные маркеры стволовых (ALDH1A3 и CD133/

PROM1) и мезенхимальных (FN1, ACTA2 и MYL9) клеток, а также AXL и его единственного известного лиганда GAS6, который связан с лекарственной устойчивостью [53].

### КОМПЛЕКСЫ КЛЕТОК СО СТВОЛОВЫМИ СВОЙСТВАМИ В СОСТАВЕ АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

В литературе встречается немного информации об изучении стволовых свойств отдельных клеток. Наряду с этим широко описываются комплексы клеток, обнаруживаемых в асците, которые также имеют признаки стволовости. Действительно, среди клеточного компонента злокачественного асцита при РЯ принято выделять одиночные опухолевые клетки, клеточные агрегаты и клеточные сфероиды [54].

Более того, образование истинных сфероидов рассматривают как признак стволовости. Процесс сфероидообразования легко наблюдать при культивировании клеток *in vitro*. У пациентов же не всегда возможно установить, образовались ли они из одной отделившейся клетки вследствие ее пролиферации, образовались за счет агрегации отдельных клеток или же произошло «отшнуровывание» комплексов клеток от первичной опухоли.

S.A. Vapat и соавт. (2005) выделили два опухолевых клонов (A2 и A4-T) CD44+ стволово-подобных клеток рака яичников, способных к образованию сфероидов в асцитической жидкости. При дальнейшем культивировании данных клеточных линий NESTIN и NANOG активно экспрессировались в монослоях A2 и A4-T, при этом было отмечено снижение уровня экспрессии в сфероидах, сформированных клетками данных линий. Описанное явление предоставило авторам основания считать, что образование сфероидов само по себе представляет событие дифференцировки. Кроме того, в сфероидах показана экспрессия маркеров, которые могут указывать на дифференцировку в покровный эпителий яичников (цитокератин 18 и виментин), гранулезу (цитокератин 18 и E-кадгерин) или герминальные клетки (щелочная фосфатаза и др.). Дифференцировка в герминальные клетки была аберрантной [55].

В отличие от результатов, полученных при изучении CD44+/CD24- стволовых клеток рака молочной железы, данные H. Jiang и соавт. (2012) показывают, что в асците трансформация стволовых опухолевых клеток происходит с формированием опухолевого субклона, называемого SP-клетками (side population cells). Данная клеточная популяция является более дифференцированной и иммунофенотипически не соответствует клеткам первичного рака (не SP-клетки), что, вероятно, связано с процессом эпителиаль-

но-мезенхимального перехода [27]. Кроме того, авторы показали, что отсортированные SP-клетки рака яичников демонстрируют более низкий инвазивный потенциал. В отличие от них, не-SP клетки рака яичников, предположительно, обладают более высокими миграционными и инвазивными свойствами. Авторами высказано обоснованное предположение, что стволовые SP-клетки могут быть ответственны за процессы взаимодействия опухоли и опухолевого микроокружения, что в том числе определяется их «боковой/раевой» локализацией в опухолевом очаге [28].

Остается ряд вопросов, в том числе одинаков ли метастатический потенциал у единичных клеток и сфероидов?

### МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ СФЕРОИДОВ В АСЦИТЕ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

Одна из гипотез предполагает, что многоклеточные сфероиды возникают из одиночных клеток, агрегирующихся в брюшной полости [56]. Можно предположить, что не все клетки имеют возможность агрегировать и, возможно, агрегируют лишь клетки с определенными свойствами. Например, известно, что экспрессия CD44 через гомофильные взаимодействия опосредует агрегацию опухолевых клеток и поликлональное метастазирование в моделях рака молочной железы, полученных от пациентов [57]. E-кадгерин, как молекула межклеточной адгезии, по-видимому, играет решающую роль в формировании сфероидов. Действительно, более высокая экспрессия E-кадгерина, как правило, была ассоциирована с более плотными и компактными сфероидами [58]. Показано, что MUC16 и  $\beta$ 1-интегрин также вовлечены в формирование сфероидов [59]. Роль эндогенного FN1 в процессе метастазирования ранее была продемонстрирована на экспериментальных моделях рака яичников. Используемая модель *in vitro*, H.A. Kenny и соавт. [60] и M.P. Iwanicki и соавт. [61], показала, что FN1, либо секретлируемый мезотелиальными клетками, либо самими клетками РЯ, необходим для того, чтобы позволить трехмерным структурам, образованным опухолевыми клетками яичников, выжить в отсутствие закрепления и в неподходящей метаболической среде.

Альтернативный механизм сфероидообразования, рассматриваемый в исследовании ряда авторов, заключается в том, что клетки отделяются от первичной опухоли целыми группами (пластами клеток), впоследствии образуя сфероиды [62–64]. Авторы сообщают, что сфероиды преимущественно формируются в результате многоклеточной отслой-



ки от первичной опухоли и ответственны за развитие перитонеального канцероматоза. Кроме того, показано, что отделяющиеся сфероиды после имплантации и пролиферации опухолевых клеток формируют морфологические структуры, соответствующие или близкие паттернам, первичной опухоли, при этом обладая иммунофенотипической гетерогенностью.

Доля опухолевых клеток в сфероидах плохо изучена. Действительно, сфероиды асцита пациентов обычно описываются как гетерогенные клеточные комплексы, состоящие из небольшого количества опухолевых клеток и различных типов неопухолевых клеток [65–68]. Кроме того, доля раковых клеток во всем асците варьирует у разных пациентов и, как сообщается, составляет от 1% [69] до примерно 8% [52] от общего количества клеточного компонента злокачественного асцита.

Роль фибробластов и макрофагов в формировании опухолевых сфероидов достаточно подробно

описана в обзоре М. Rakina и соавт., в котором также обсуждены специфические функции фибробластов, макрофагов и Т-клеток в распространении и имплантации опухоли по брюшине [70].

На рис. 1 мы представили собственную схему формирования опухолевых сфероидов, входящих в состав злокачественного асцита при раке яичника. Исходя из данных литературы и собственных исследований, можно предположить два основных механизма формирования опухолевых сфероидов. Первый обусловлен пролиферацией одиночных стволовых клеток с последующим образованием сферической структуры. Второй механизм предполагает отрыв клеточного пласта от первичной опухоли, несущий в своем составе стволовые клетки. Впоследствии к сфероиду присоединяются опухолевые фибробласты, M2-макрофаги, а также происходит адгезия к сформировавшейся структуре нестволовых клеток с последующей диссеминацией по брюшной полости.

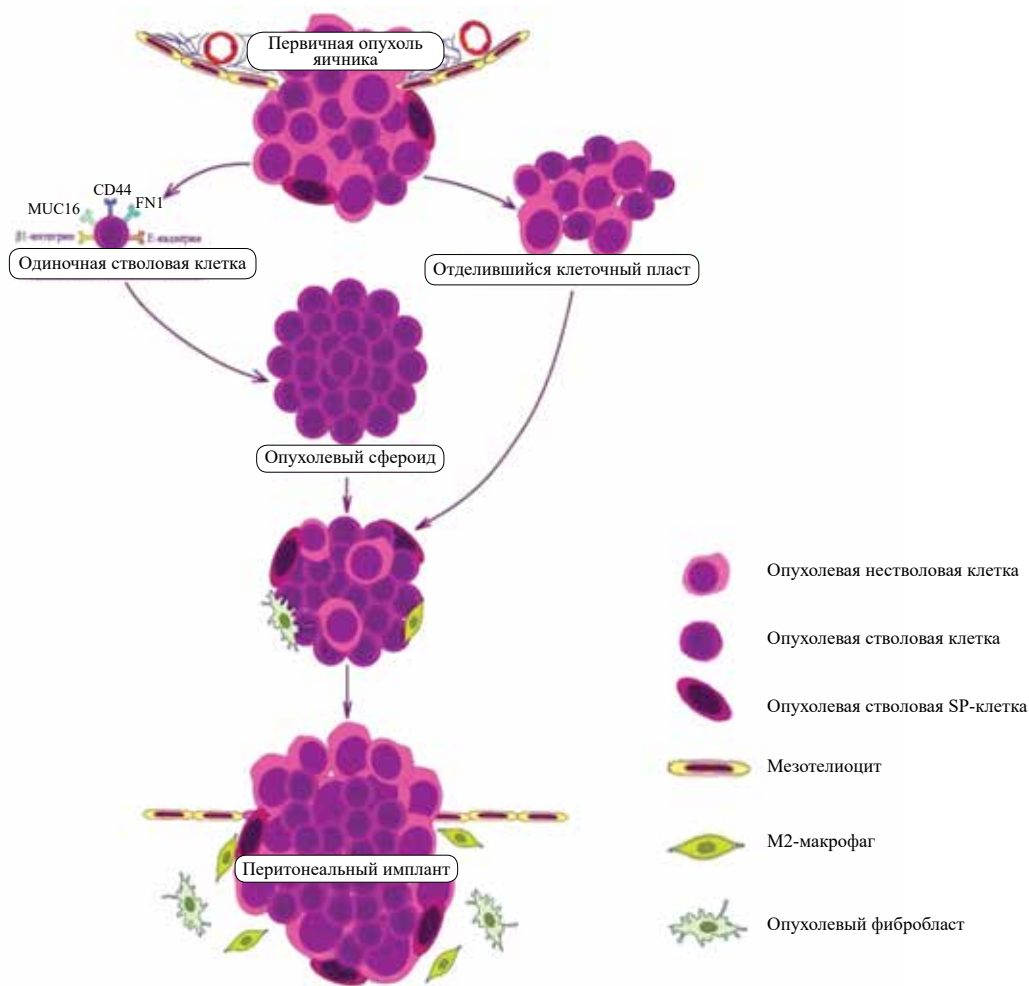


Рис. 1. Современные представления о формировании опухолевых сфероидов, входящих в состав злокачественного асцита при раке яичника

## ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКА, СТРАТЕГИИ ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЯ

Опухолевые стволовые клетки характеризуются свойством экскретировать цитотоксические вещества из своей цитоплазмы, по этому признаку возможно провести их идентификацию. Это свойство было использовано при изолировании ОСК методом разделения клеток с помощью флуоресценции (FACS). В экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo* клетки инкубировали с красителем и разделяли на различные фракции с помощью FACS на основе их способности удерживать краситель. Показано, что клетки, выделявшие большую часть красителя, обладали более выраженными признаками стволовости в сравнении с остальными клетками. Этот метод был впервые использован для выделения опухоль-инициирующих клеток при остром миелоидном лейкозе [71]. Описана устойчивость к цисплатину, топотекану и доцетакселу опухолевых клеток, формирующих сфероиды [72].

Довольно перспективным подходом к терапии рака яичника может являться стимуляция дифференцировки ОСК. Химиотерапевтические режимы, направленные на ОСК, могут оказаться неэффективными, поскольку возможность пролиферации и дедифференцировки дочерних ОСК может заместить популяцию уничтоженных, чувствительных к терапии ОСК. На сегодняшний день существуют разработанные подходы «дифференцирующей» терапии, например, с использованием транс-ретиноевой кислоты при лечении острого промиелоцитарного лейкоза [73]. Аналогичные стратегии с использованием костных морфогенетических белков оказались эффективны в экспериментальной терапии глиом, приводя к уменьшению количества опухолевых стволовых клеток [74].

Существуют исследования на мышинных моделях, где лечение фасудилом латеральной остеосаркомы, вызванной подсадкой клеточной линии с ингибированным геном *c-Myc* (остеосаркома-имитирующие клетки), привело к дедифференцировке части стволовых опухолевых клеток, обладающих способностью к тринейной дифференцировке (в остециты, хондроциты и адипоциты). Часть резистентных опухолевых клеток со стволовыми свойствами трансформировалась под действием терапии в адипоциты, тем самым усилив опухолевый патоморфоз [75]. В современной литературе нет данных о дифференцирующих агентах для стволовых клеток рака яичника, но показано, что ингибирующее вещество MIS или его миметик SP600125 таргетно подавляют

CD44+CD24+ErCam+ ОСК в клеточных линиях рака яичника, полученных из клеток асцита [27].

Точкой воздействия для системной терапии рака яичника, нацеленной на подавление стволовых свойств, могут являться различные сигнальные пути, регулирующие стволовость. Так, например, группой исследователей *in vitro* был продемонстрирован один из механизмов развития химиорезистентности сфероидов, полученных из культуры опухолевых клеток при злокачественном асците, заключающийся в переходе данных клеточных структур в состояние «покоя» (переход клеток в фазу G0 клеточного цикла) путем снижением синтеза В-протеинкиназы вследствие ингибирования гена *AKT* (alpha serine/threonine-protein kinase), что приводило к повышению экспрессии p130/RBL2 и p27Kip1 и снижению уровня SKP2. Впоследствии было показано, что после адгезии сфероида на «оптимальной» для имплантации поверхности происходит активация АКТ-сигнального пути, тем самым запуская процесс инвазии и пролиферации опухолевых клеток [76]. В настоящее время два ингибитора АКТ, капивасертиб и ипатасертиб, проходят клинические испытания III фазы для лечения рака [77].

Стратегия, основанная на разрушении или предотвращении образования сфероидов, также выглядит довольно привлекательной. Ингибирование еще одного известного сигнального пути Hedgehog с помощью циклопамина приводило к индукции 10-кратного снижения образования сфероидов в клеточных линиях рака яичников [78]. Известно, что нектин-4 пептид 10 (N4-P10) приводит к быстрому нарушению сфероидообразования рака яичников [78]. В исследовании S. Rafahi и соавт. показано, что образование сфероидов из клеток, выделенных из асцита больных раком яичника, нарушалось под воздействием SB-431542. Это делало клетки восприимчивыми к карбоплатин-индуцированной клеточной гибели [79].

Еще одной возможной точкой приложения терапии может являться взаимодействие опухолевых и неопухолевых клеток в составе сфероидов. Паракринная активация WNT во время взаимодействия ОСК и M2 макрофагов представляет собой петлю положительной обратной связи, которая, вероятно, способствует формированию более агрессивного фенотипа опухолевых клеток [38], что делает путь WNT потенциальной мишенью для подавления ОСК. Кроме того, исследования показали, что катумаксомаб уничтожает CD133+/ErCAM+ ОСК путем активации Т-клеток в асците в случаях распространенного рака яичников [80].

На рис. 2 мы схематично представлено несколько стратегий преодоления химиорезистентности опухолевых стволовых клеток при раке яичников.





Рис. 2. Стратегии преодоления химиорезистентности опухолевых стволовых клеток при раке яичников

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Создание будущих стратегий лечения рака яичников будет опираться на изучение сигнальных путей в стволовых клетках рака яичников, механизмов образования сфероидов, а также вкладе иммунных клеток в приобретение стволовых свойств клетками опухоли. Стоит также подчеркнуть возможность интеграции использования прогностических биомаркеров, основанных на определении опухолевых стволовых клеток, в существующие подходы для прогнозирования исходов рака яичника для индивидуализации химиотерапии текущими схемами лечения.

Учитывая, что опухолевые стволовые клетки могут опосредовать химиорезистентность рака яичника, оценка стволовых свойств опухолевых клеток в асците позволит оперативно предсказывать эффективность существующей терапии у больных. Однако главной трудностью остается идентификация опухолевых стволовых клеток. Многочисленные исследования показывают, что субпопуляции клеток рака яичников экспрессируют маркеры стволовости на очень разных уровнях в различных комбинациях и ни один из этих маркеров не является обязательным. Эти данные подтверждают феномен опухолевой пластичности, который стал изучаться совсем недавно, и требуют дальнейших исследований в клинической практике.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Motohara T., Masuda K., Morotti M., Zheng Y., El-Sahhar S., Chong K.Y. et al. An evolving story of the metastatic voyage of ovarian cancer cells: Cellular and molecular orchestration of the adipose-rich metastatic microenvironment. *Oncogene*. 2019;38(16):2885–2898. DOI: 10.1038/s41388-018-0637-x.
- Ahmed N., Abubaker K., Findlay J.K. Ovarian cancer stem cells: Molecular concepts and relevance as therapeutic targets. *Mol. Asp. Med.* 2014;39:110–125. DOI: 10.1016/j.mam.2013.06.002.
- Horst D., Kriegl L., Engel J., Kirchner T., Jung A. Prognostic significance of the cancer stem cell markers CD133, CD44, and CD166 in colorectal cancer. *Cancer Investigation*. 2009;27(8):844–850. DOI: 10.1080/07357900902744502.
- Yan Y., Zuo X., Wei D. Concise Review: Emerging Role of CD44 in Cancer Stem Cells: A Promising Biomarker and Therapeutic Target. *Stem Cells Translational Medicine*. 2015;4(9):1033–1043. DOI: 10.5966/sctm.2015-0048.
- Lee Y.J., Wu C.C., Li J.W., Ou C.C., Hsu S.C., Tseng H.H. et al. A rational approach for cancer stem-like cell isolation and characterization using CD44 and prominin-1(CD133) as selection markers. *Oncotarget*. 2016;7(48):78499–78515. DOI: 10.18632/oncotarget.12100.
- Gao M.Q., Choi Y.P., Kang S., Youn J.H., Cho N.H. CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene*. 2010;29(18):2672–2680. DOI: 10.1038/nc.2010.35.
- Zhang S., Balch C., Chan M.W., Lai H.C., Matei D., Schilder J.M. et al. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res*. 2008;68(11):4311–4320. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0364.
- Li Z., Block M.S., Vierkant R.A., Fogarty Z.C., Winham S.J., Visscher D.W. et al. The inflammatory microenvironment in epithelial ovarian cancer: a role for TLR4 and MyD88 and related proteins. *Tumour Biology: the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2016;37(10):13279–13286. DOI: 10.1007/s13277-016-5163-2.
- Burns K., Clatworthy J., Martin L., Martinon F., Plumpton C., Maschera B. et al. Tollip, a new component of the IL-1RI pathway, links IRAK to the IL-1 receptor. *Nature Cell Biology*. 2000;2(6):346–351. DOI: 10.1038/35014038.
- López J., Valdez-Morales F.J., Benítez-Bribiesca L., Cerbón M., Carrancá A.G. Normal and cancer stem cells of the human female reproductive system. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2013;11:53. DOI: 10.1186/1477-7827-11-53.
- Spizzo G., Went P., Dirnhofer S., Obrist P., Moch H., Baeuerle P.A. et al. Overexpression of epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) is an independent prognostic marker for reduced survival of patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*. 2006;103(2):483–488. DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.03.035.
- Chang B., Liu G., Xue F., Rosen D.G., Xiao L., Wang X. et al. ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancers. *Modern Pathology: an Official Journal of the United States and Canadian Academy of*

- Pathology*. 2009;22(6):817–823. DOI: 10.1038/mod-pathol.2009.35.
13. Deng S., Yang X., Lassus H., Liang S., Kaur S., Ye Q. et al. Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS One*. 2010;5(4):e10277. DOI: 10.1371/journal.pone.0010277.
  14. Cioffi M., D'Alterio C., Camerlingo R., Tirino V., Consales C., Riccio A. et al. Identification of a distinct population of CD133(+)CXCR4(+) cancer stem cells in ovarian cancer. *Sci. Report*. 2015;5:10357. DOI: 10.1038/srep10357.
  15. Kajiyama H., Shibata K., Terauchi M., Ino K., Nawa A., Kikkawa F. Involvement of SDF-1alpha/CXCR4 axis in the enhanced peritoneal metastasis of epithelial ovarian carcinoma. *International Journal of Cancer*. 2008;122(1):91–99. DOI: 10.1002/ijc.23083.
  16. Krohn A., Song Y.H., Muehlberg F., Droll L., Beckmann C., Alt E. CXCR4 receptor positive spheroid forming cells are responsible for tumor invasion *in vitro*. *Cancer Letters*. 2009;280(1):65–71. DOI: 10.1016/j.canlet.2009.02.005.
  17. Rodda D.J., Chew J.L., Lim L.H., Loh Y.H., Wang B., Ng H.H. et al. Transcriptional regulation of nanog by OCT4 and SOX2. *J. Biol. Chem*. 2005;280(26):247317. DOI: 10.1074/jbc.M502573200.
  18. Alemohammad H., Asadzadeh Z., Motafakker Azad R., Hemmat N., Najafzadeh B., Vasefifar P. et al. Signaling pathways and microRNAs, the orchestrators of NANOG activity during cancer induction. *Life Sci*. 2020;260:118337. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118337.
  19. Lin F.K., Chui Y.L. Generation of induced pluripotent stem cells from mouse cancer cells. *Cancer Biother. Radiopharm*. 2012;27(10):694–700. DOI: 10.1089/cbr.2012.1227.
  20. Kaufhold S., Garbán H., Bonavida B. Yin Yang 1 is associated with cancer stem cell transcription factors (SOX2, OCT4, BMI1) and clinical implication. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2016;35:84. DOI: 10.1186/s13046-016-0359-2.
  21. Stevanovic M., Zuffardi O., Collignon J., Lovell-Badge R., Goodfellow P. The cDNA sequence and chromosomal location of the human SOX2 gene. *Mamm. Genome*. 1994;5(10):640–642. DOI: 10.1007/BF00411460.
  22. Peng S., Maihle N.J., Huang Y. Pluripotency factors Lin28 and Oct4 identify a sub-population of stem cell-like cells in ovarian cancer. *Oncogene*. 2010;29(14):2153–2159. DOI: 10.1038/onc.2009.500.
  23. Baba T., Convery P.A., Matsumura N., Whitaker R.S., Kondoh E., Perry T. et al. Epigenetic regulation of CD133 and tumorigenicity of CD133+ ovarian cancer cells. *Oncogene*. 2009;28(2):209–218. DOI: 10.1038/onc.2008.374.
  24. Curley M.D., Therrien V.A., Cummings C.L., Sergent P.A., Koulouris C.R., Friel A.M. et al. CD133 expression defines a tumor initiating cell population in primary human ovarian cancer. *Stem Cells*. 2009;27(12):2875–2883. DOI: 10.1002/stem.236.
  25. Silva I.A., Bai S., McLean K., Yang K., Griffith K., Thomas D. et al. Aldehyde dehydrogenase in combination with CD133 defines angiogenic ovarian cancer stem cells that portend poor patient survival. *Cancer Res*. 2011;71(11):3991–4001. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3175.
  26. Wei X., Dombkowski D., Meirelles K., Pieretti-Vanmarcke R., Szotek P.P., Chang H.L. et al. Mullerian inhibiting substance preferentially inhibits stem/progenitors in human ovarian cancer cell lines compared with chemotherapeutics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2010;107(44):18874–18879. DOI: 10.1073/pnas.1012667107.
  27. Jiang H., Lin X., Liu Y., Gong W., Ma X., Yu Y. et al. Transformation of epithelial ovarian cancer stemlike cells into mesenchymal lineage via EMT results in cellular heterogeneity and supports tumor engraftment. *Mol. Med*. 2012;18(1):1197–1208. DOI: 10.2119/molmed.2012.00075.
  28. Motohara T., Masuko S., Ishimoto T., Yae T., Onishi N., Muraguchi T. et al. Transient depletion of p53 followed by transduction of c-Myc and K-Ras converts ovarian stem-like cells into tumor-initiating cells. *Carcinogenesis*. 2011;32(11):1597–1606. DOI: 10.1093/carcin/bgr183.
  29. Gao M.Q., Choi Y.P., Kang S., Youn J.H., Cho N.H. CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene*. 2010;29(18):2672–2680. DOI: 10.1038/onc.2010.35.
  30. Кайгородова Е.В., Федуллова Н.В., Очиров М.О., Дьяков Д.А., Молчанов С.В., Часовских Н.Ю. Различные популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(1):50–58. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-1-50-58.
  31. Кайгородова Е.В., Очиров М.О., Молчанов С.В., Рогачев Р.Р., Дьяков Д.Д., Чернышова А.Л. и др. Различные популяции ЕрСам-положительных клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(2):44–53. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-2-44-53.
  32. Wang Z., Yang L., Huang Z., Li X., Xiao J., Qu Y. et al. Identification of prognosis biomarkers for high-grade serous ovarian cancer based on stemness. *Front. Genet*. 2022;13:861954. DOI: 10.3389/fgene.2022.861954.
  33. Bai S., Ingram P., Chen Y.C., Deng N., Pearson A., Niknafs Y.S. et al. EGFL6 regulates the asymmetric division, maintenance, and metastasis of ALDH+ ovarian cancer cells. *Cancer Res*. 2016;76(21):6396–6409. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0225.
  34. Wang K., Wang Y., Wang Y., Liu S., Wang C., Zhang S. et al. EIF5A2 enhances stemness of epithelial ovarian cancer cells via a E2F1/KLF4 axis. *Stem Cell Res. Ther*. 2021;12(1):186. DOI: 10.1186/s13287-021-02256-2.
  35. Giordano M., Decio A., Battistini C., Baronio M., Bianchi F., Villa A. et al. L1CAM promotes ovarian cancer stemness and tumor initiation via FGFR1/SRC/STAT3 signaling. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2021;40(1):319. DOI: 10.1186/s13046-021-02117-z.
  36. Zhang Y., Wang Y., Zhao G., Tanner E.J., Adli M., Matei D. FOXK2 promotes ovarian cancer stemness by regulating the unfolded protein response pathway. *J. Clin. Invest*. 2022;132(10):151591. DOI: 10.1172/JCI151591.
  37. Schwitalla S., Fingerle A.A., Cammareri P., Nebelsiek T., Göktuna S.I., Ziegler P.K. et al. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties. *Cell*. 2013;152(1-2):25–38. DOI: 10.1016/j.cell.2012.12.012.

38. Raghavan S., Mehta P., Xie Y., Lei Y.L., Mehta G. Ovarian cancer stem cells and macrophages reciprocally interact through the WNT pathway to promote pro-tumoral and malignant phenotypes in 3D engineered microenvironments. *J. Immunother. Cancer*. 2019;7(1):190. DOI: 10.1186/s40425-019-0666-1.
39. Zhang S., Balch C., Chan M.W., Lai H.C., Matei D., Schilder J.M. et al. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res*. 2008;68(11):4311–4320. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0364.
40. Lau W., Peng W.C., Gros P., Clevers H. The R-spondin/Lgr5/Rnf43 module: regulator of Wnt signal strength. *Genes Dev*. 2014;28(4):305–316. DOI: 10.1101/gad.235473.113.
41. Генинг С.О., Абакумова Т.В., Антонеева И.И., Ризванов А.А., Генинг Т.П., Гуфурбаева Д.У. Стволово-подобные опухолевые клетки и провоспалительные цитокины в асцитической жидкости пациенток с раком яичников. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021;66(5):297–303. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-5-297-303.
42. Meirelles K., Benedict L.A., Dombkowski D., Pepin D., Preffer F.I., Teixeira J. et al. Human ovarian cancer stem/progenitor cells are stimulated by doxorubicin but inhibited by Mullerian inhibiting substance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(7):2358–2363. DOI: 10.1073/pnas.1120733109.
43. Bourguignon L.Y., Peyrollier K., Xia W., Gilad E. Hyaluronan-CD44 interaction activates stem cell marker Nanog, Stat-3-mediated MDR1 gene expression, and ankyrin-regulated multidrug efflux in breast and ovarian tumor cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008;283(25):17635–17651. DOI: 10.1074/jbc.M800109200.
44. Xia M., Overman M.J., Rashid A., Chatterjee D., Wang H., Katz M.H. et al. Expression and clinical significance of epidermal growth factor receptor and insulin-like growth factor receptor 1 in patients with ampullary adenocarcinoma. *Human Pathology*. 2015;46(9):1315–1322. DOI: 10.1016/j.humpath.2015.05.012.
45. Garson K., Vanderhyden B.C. Epithelial ovarian cancer stem cells: underlying complexity of a simple paradigm. *Reproduction*. 2015;149(2):59–70. DOI: 10.1530/REP-14-0234.
46. Jäger M., Schoberth A., Ruf P., Hess J., Hennig M., Schmalfeldt B. et al. Immunomonitoring results of a phase II/III study of malignant ascites patients treated with the trifunctional antibody catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3). *Cancer Res*. 2012;72(1):24–32. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2235.
47. Akhter M.Z., Sharawat S.K., Kumar V., Kochat V., Eqbal Z., Ramakrishnan M. et al. Aggressive serous epithelial ovarian cancer is potentially propagated by EpCAM+CD45+ phenotype. *Oncogene*. 2018;37(16):2089–2103. DOI: 10.1038/s41388-017-0106-y.
48. Wicha M.S., Liu S., Dontu G. Cancer stem cells: an old idea – a paradigm shift. *Cancer Res*. 2006;66(4):1883–1890. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3153.
49. Кайгородова Е.В., Ковалев О.В., Чернышова А.Л., Вторушин С.В., Шпилёва О.В. Гетерогенность EpCAM-положительных клеток в асцитической жидкости low-grade серозной карциномы яичников: клинический случай. *Онкологии женской репродуктивной системы*. 2021;17(4):90–95. DOI: 10.17650/1994-4098-2021-17-4-90-95.
50. Козик А.В., Кайгородова Е.В., Грищенко М.Ю., Вторушин С.В., Чернышова А.Л. EpCAM+CD45+ клетки в асцитической жидкости больных новообразованиями яичников: связь с уровнями онкомаркеров и степенью злокачественности. *Сибирский онкологический журнал*. 2022;21(5):44–51. DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-5-44-51.
51. Kaigorodova E.V., Kozik A.V., Zavaruev I.S. Grishchenko M.Y. Hybrid/atypical forms of circulating tumor cells: current state of the art. *Biochemistry Moscow*. 2022;87(4):380–390. DOI: 10.1134/S0006297922040071.
52. Izar B., Tirosh I., Stover E.H., Wakiro I., Cuoco M.S., Alter I. et al. A single-cell landscape of high-grade serous ovarian cancer. *Nature Medicine*. 2020;26(8):1271–1279. DOI: 10.1038/s41591-020-0926-0.
53. Wu X., Liu X., Koul S., Lee C.Y., Zhang Z., Halmos B. AXL kinase as a novel target for cancer therapy. *Oncotarget*. 2014;5(20):9546–9563. DOI: 10.18632/oncotarget.2542.
54. Shield K., Ackland M.L., Ahmed N., Rice G.E. Multicellular spheroids in ovarian cancer metastases: Biology and pathology. *Gynecologic Oncology*. 2009;113(1):143–148. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.11.032.
55. Bapat S.A., Mali A.M., Koppikar C.B., Kurrey N.K. Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*. 2005;65(8):3025–3029. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3931.
56. Shield K., Ackland M.L., Ahmed N., Rice G.E. Multicellular spheroids in ovarian cancer metastases: biology and pathology. *Gynecol. Oncol.* 2009;113(1):143–148. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.11.032.
57. Liu X., Taftaf R., Kawaguchi M., Chang Y.F., Chen W., Entenberg D. et al. Homophilic CD44 interactions mediate tumor cell aggregation and polyclonal metastasis in patient-derived breast cancer models. *Cancer Discov*. 2019;9(1):96–113. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0065.
58. Xu S., Yang Y., Dong L., Qiu W., Yang L., Wang X. et al. Construction and characteristics of an E-cadherin-related three-dimensional suspension growth model of ovarian cancer. *Scientific Reports*. 2014;4:5646. DOI: 10.1038/srep05646.
59. Sodek K.L., Ringuette M.J., Brown T.J. Compact spheroid formation by ovarian cancer cells is associated with contractile behavior and an invasive phenotype. *International Journal of Cancer*. 2009;124(9):2060–2070. DOI: 10.1002/ijc.24188.
60. Kenny H.A., Chiang C.Y., White E.A., Schryver E.M., Habis M., Romero I.L. et al. Mesothelial cells promote early ovarian cancer metastasis through fibronectin secretion. *The Journal of Clinical Investigation*. 2014;124(10):4614–4628. DOI: 10.1172/JCI74778.
61. Iwanicki M.P., Chen H.Y., Iavarone C., Zervantonakis I.K., Muranen T., Novak M. et al. Mutant p53 regulates ovarian cancer transformed phenotypes through autocrine matrix deposition. *JCI Insight*. 2016;1(10):e86829. DOI: 10.1172/jci.insight.86829.
62. Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. *Am. J. Pathol.* 2010;177(3):1053–1064. DOI: 10.2353/ajpath.2010.100105.
63. Elloul S., Elstrand M.B., Nesland J.M., Tropé C.G., Kvalheim G., Goldberg I. et al. Snail, slug, and smad-interacting protein 1 as novel parameters of disease aggressive-

- ness in metastatic ovarian and breast carcinoma. *Cancer*. 2005;103(8):1631–1643. DOI: 10.1002/cncr.20946.
64. Veatch A.L., Carson L.F., Ramakrishnan S. Differential expression of the cell-cell adhesion molecule E-cadherin in ascites and solid human ovarian tumor cells. *International Journal of Cancer*. 1994;58(3):393–399. DOI: 10.1002/ijc.2910580315.
  65. Latifi A., Luwor R.B., Bilandzic M., Nazaretian S., Stenvers K., Pyman J. et al. Isolation and characterization of tumor cells from the ascites of ovarian cancer patients: molecular phenotype of chemoresistant ovarian tumors. *PLoS One*. 2012;7(10):e46858. DOI: 10.1371/journal.pone.0046858.
  66. Fritz J.L., Collins O., Saxena P., Buensuceso A., Ramos Valdes Y., Francis K.E. et al. A novel role for NUA1 in promoting ovarian cancer metastasis through regulation of fibronectin production in spheroids. *Cancers*. 2020;12(5):1250. DOI: 10.3390/cancers12051250.
  67. Ojasalu K., Brehm C., Hartung K., Nischak M., Finkernagel F., Rexin P. et al. Upregulation of mesothelial genes in ovarian carcinoma cells is associated with an unfavorable clinical outcome and the promotion of cancer cell adhesion. *Molecular Oncology*. 2020;14(9):2142–2162. DOI: 10.1002/1878-0261.12749.
  68. Reinartz S., Lieber S., Pesek J., Brandt D.T., Asafova A., Finkernagel F. et al. Cell type-selective pathways and clinical associations of lysophosphatidic acid biosynthesis and signaling in the ovarian cancer microenvironment. *Molecular Oncology*. 2019;13(2):185–201. DOI: 10.1002/1878-0261.12396.
  69. Kipps E., Tan D.S., Kaye S.B. Meeting the challenge of ascites in ovarian cancer: new avenues for therapy and research. *Nature reviews. Cancer*. 2013;13(4):273–282. DOI: 10.1038/nrc3432.
  70. Rakina M., Kazakova A., Villert A., Kolomiets L., Larionova I. Spheroid formation and peritoneal metastasis in ovarian cancer: the role of stromal and immune components. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(11):6215. DOI: 10.3390/ijms23116215.
  71. Dick J.E., Bhatia M., Gan O., Kapp U., Wang J.C. Assay of human stem cells by repopulation of NOD/SCID mice. *Stem Cells*. 1997;15Suppl.1:199–203;discussion 204–197. DOI: 10.1002/stem.5530150826.
  72. Wang L., Mezencev R., Bowen N.J., Matyunina L.V., McDonald J.F. Isolation and characterization of stem-like cells from a human ovarian cancer cell line. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2012;363(1-2):257–268. DOI: 10.1007/s11010-011-1178-6.
  73. De Thé H. Differentiation therapy revisited. *Nat. Rev. Cancer*. 2018;18(2):117–127 DOI: 10.1038/nrc.2017.103.
  74. Nayak S., Mahenthiran A., Yang Y., McClendon M., Mania-Farnell B., James C.D. et al. Bone morphogenetic protein 4 targeting glioma stem-like cells for malignant glioma treatment: latest advances and implications for clinical application. *Cancers (Basel)*. 2020;12(2):516. DOI: 10.3390/cancers12020516.
  75. Arima Y., Nobusue H., Saya H. Targeting of cancer stem cells by differentiation therapy. *Cancer Sci*. 2020;111(8):2689–2695. DOI: 10.1111/cas.14504.
  76. Correa R.J., Peart T., Valdes Y.R., DiMattia G.E., Shepherd T.G. Modulation of AKT activity is associated with reversible dormancy in ascites-derived epithelial ovarian cancer spheroids. *Carcinogenesis*. 2012;33(1):49–58. DOI: 10.1093/carcin/bgr241.
  77. Hua H., Zhang H., Chen J., Wang J., Liu J., Jiang Y. Targeting Akt in cancer for precision therapy. *Journal of Hematology & Oncology*. 2021;4(1):128. DOI: 10.1186/s13045-021-01137-8.
  78. Emami K.H., Nguyen C., Ma H., Kim D.H., Jeong K.W., Eguchi M. et al. A small molecule inhibitor of beta-catenin/CREB-binding protein transcription [corrected]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(34):12682–12687. DOI: 10.1073/pnas.0404875101.
  79. Rafahi S., Ramos Valdes Y., Bertrand M., McGee J., Préfontaine M., Sugimoto A. et al. TGFβ signaling regulates epithelial-mesenchymal plasticity in ovarian cancer ascites-derived spheroids. *Endocrine-Related Cancer*. 2016;23(3):147–159. DOI: 10.1530/ERC-15-0383.
  80. Jäger M., Schoberth A., Ruf P., Hess J., Hennig M., Schmalfeldt B. et al. Immunomonitoring results of a phase II/III study of malignant ascites patients treated with the trifunctional antibody catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3). *Cancer Research*. 2012;72(1):24–32. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2235.

## Информация об авторах

**Ковалев Олег Игоревич** – аспирант, кафедра патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, Oleg.kovalev8284@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6826-725X>

**Вторушин Сергей Владимирович** – руководитель отделения общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; д-р мед. наук, профессор, кафедра патологической анатомии, СибГМУ; г. Томск, wtorushin@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1195-4008>

**Кайгородова Евгения Викторовна** – д-р мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск, zlobinae@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4378-6915>

✉ **Вторушин Сергей Владимирович**, wtorushin@rambler.ru

Поступила в редакцию 08.02.2023;  
одобрена после рецензирования 15.02.2023;  
принята к публикации 27.02.2023