

## РОЛЬ АКТИВИРОВАННЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РАЗВИТИИ ПРОТОВОКОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РЕМОДЕЛИРОВАНИЮ СТРОМЫ

© 2022 г. И. В. Рыков<sup>1</sup>, Е. Г. Солоницын<sup>1</sup>, Т. М. Шестопалова<sup>2</sup>, И. И. Гин<sup>3</sup>, Е. Н. Толкунова<sup>3</sup>, \*

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, 197341 Россия

<sup>2</sup>Национальный центр клинической морфологической диагностики, Санкт-Петербург, 192283 Россия

<sup>3</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

\*E-mail: entolk62@mail.ru

Поступила в редакцию 12.09.2021 г.

После доработки 23.09.2021 г.

Принята к публикации 27.09.2021 г.

Прогресс в терапии рака поджелудочной железы остается весьма незначительным, и по прогнозам в течение следующего десятилетия протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (PDAC) станет в западных странах второй ведущей причиной смертности от рака. Традиционная цитотоксическая химиотерапия представляет собой современный стандарт лечения метастатического PDAC. Результаты исследований эпителиального и стромального компонентов показали, что плотная фиброзная строма опухоли играет активную роль в процессе развития PDAC. Накапливаются данные о том, что активированная строма способствует прогрессированию опухоли. В небольшом обзоре мы описываем современное представление о роли активированных клеток опухолевой стромы в развитии PDAC и современное состояние исследований, направленных на создание новых терапевтических стратегий стромальной абляции и ремоделирования.

**Ключевые слова:** протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, активированные клетки опухолевой стромы, десмоплазия

**DOI:** 10.31857/S0041377122010096

Метастатическая протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (PDAC) является одной из наиболее летальных солидных опухолей, несмотря на использование традиционных схем химиотерапии. PDAC составляет ~95% случаев рака поджелудочной железы (Hidalgo, 2010). Количество смертельных исходов этого заболевания в США оценивается как 45.750 в 2019 (Siegel et al., 2019). Прогресс в терапии рака поджелудочной железы остается весьма незначительным, и по прогнозам PDAC станет в западных странах второй ведущей причиной смертности от рака в течение следующего десятилетия (Rahib et al., 2014). Симптомы заболевания часто неспецифичны, а это означает, что заболевание часто обнаруживается на поздних стадиях. Традиционная цитотоксическая химиотерапия представляет собой

современный стандарт лечения прогрессирующего или метастатического PDAC и обеспечивает только месяцы продления жизни (Von Hoff et al., 2013; Conroy et al., 2011). Новые подходы к исследованию генетических и эпигенетических изменений, опухолево-стромальных взаимосвязей и идентификации биомаркеров раннего обнаружения заболевания до настоящего момента не обеспечили резкого изменения общей выживаемости больных PDAC (Kleeff et al., 2016). Более того, в период с 2011 по 2015 г. было зарегистрировано увеличение смертности пациентов с PDAC на 0.3% (Siegel et al., 2018), а пожизненные шансы развития составляют примерно 1 из 64 человек.

Морфологически развитие PDAC начинается с так называемой интраэпителиальной неоплазии поджелудочной железы (Ho et al., 2020), и развивается с увеличением гистологической стадии вплоть до превращения в инвазивную аденокарциному. Развитие опухоли приводит к изменению тканевой стромы. Стромальная перестройка является распространенным явлением, например при заживлении раны, в случае которого активированные миофибробласты подвергаются апоптозу после полного заживления ткани (Rybinski et al., 2014). Однако при

**Принятые сокращения:** ВКМ – внеклеточный матрикс; ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход; ММП – матриксные металлопротеиназы; МОО – микроокружение опухоли; CAFs – ассоциированные с опухолью фибробласты; PDAC – протоковая аденокарцинома поджелудочной железы; PEGPH20 – синтетическая модифицированная фрагментами полиэтиленгликоля форма гиалуронидазы, PSCs – звездчатые клетки поджелудочной железы;  $\alpha$ -SMA –  $\alpha$ -гладкомышечный актин.

раке активированные миофибробласты не элиминируются, и злокачественная опухоль прогрессирует до стадии, на которой строма изменяется так, что сама начинает вносить вклад в прогрессирование новообразования (Malik et al., 2015). Основной характеристикой нетрансформированной тканевой стромы является способность обеспечивать гомеостатический ответ на травму с помощью ее иммунных, сосудистых и соединительнотканых компонентов. Развитие опухоли нарушает гомеостаз, в результате чего создается благоприятное для роста микроокружение опухоли (МОО) (Foster et al., 2018). Именно МОО является важным фактором, лежащим в основе резистентности PDAC к лечению.

МОО представлено плотной матрицей, состоящей из коллагена, гидрофильного гликозаминогликана гиалуроновой кислоты (известной также как гиалуронан), фибронектинов, протеогликанов и содержит стромальные и иммунные клетки. Считается, что микроокружение многих солидных опухолей обладает повышенным интерстициальным давлением, которое не только разрушает кровеносные сосуды, но и физически ограничивает перфузию цитотоксических препаратов в опухолевые клетки. Гиалуронан, содержание которого повышено в МОО аденокарциномы PDAC, может быть быстро разрушен (переварен) гиалуронидазой (Toole, Slomiany, 2008). На животных моделях было показано, что гиалуронидаза деградирует гиалуронан, и это приводит к снижению интерстициального давления опухоли, повторному расширению микроциркуляторного русла, увеличению концентрации внутри опухоли химиотерапевтических средств, задержке роста опухоли и продлению жизни (Provenzano et al., 2012).

В качестве терапевтического промотора, модифицирующего строму опухоли, дополняющего применяемые цитостатики и облегчающие их доставку к клеткам опухоли поджелудочной железы, была предложена пегилированная (то есть модифицированная фрагментами полиэтиленгликоля) форма рекомбинантной гиалуронидазы человека (PEGPH20). Она обладает более длинным периодом полураспада, чем природные гиалуронидазы. Таргетирование опухолево-стромальных связей в МОО является перспективной терапевтической стратегией направленной против прогрессирования и метастазирования рака поджелудочной железы.

В небольшом обзоре мы опишем современное представление о роли активированных клеток опухолевой стромы в развитии PDAC и современное состояние исследований, направленных на создание новых терапевтических стратегий стромальной абляции и ремоделирования стромы.

## ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС PDAC

Недавно разработанные стратегии лечения PDAC делали акцент на попытках ремоделирования стро-

мы с целью облегчить распределение системных агентов в МОО. Строма опухоли включает такие компоненты, как клетки сосудистой системы, фибробласты, иммунные клетки и внеклеточный матрикс (ВКМ) (Brekken et al., 2000; Jacobetz et al., 2013). ВКМ — это физическая и биохимическая структура, которая регулирует трехмерную организацию и функцию клеток в данной ткани. Уникальная архитектура и четкий биохимический состав ВКМ направляет матриксно-клеточные взаимодействия в основном через клеточные рецепторы специфических белков ВКМ (Geiger, Yamada, 2011). Архитектура ВКМ также обеспечивает определяющее физическое руководство во время туморогенеза, влияя на миграцию клеток, инвазию и метастазирование (Provenzano et al., 2008; Goetz et al., 2011). ВКМ биохимически и структурно существует в двух различных формах: базальная мембрана и интерстициальный (стромальный) ВКМ. Базальная мембрана — листовидная структура — расположена на базальной поверхности большинства эпителиальных и эндотелиальных монослоев, состоит в основном из ламининов, коллагена IV, энтактина, гепаринсульфатных протеогликанов и нидогена и служит плотным барьером, отделяющим эпителий или эндотелий от нижележащей мезенхимы (Kalluri, 2003).

Основная масса стромального ВКМ продуцируется мезенхимными (т.е. фибробластными) клетками и богата фибриллярными гликопротеинами, такими как коллагены I и III, а также фибронектином (Badylak et al., 2009). В нормальных непатологических условиях базальная мембрана обеспечивает апикобазальную полярность эпителия, но при определенных физиологических состояниях, таких как заживление и развитие ран, а также при патологических нарушениях, таких как рак и хронический фиброз, когда нарушается гомеостатическое равновесие, базальная мембрана часто истончается или деградирует (Paszek et al., 2005). В этих условиях эпителиальные клетки “активируются” и, частично пройдя через эпителиально-мезенхимный переход, приобретают способность мигрировать, пересекают базальную мембрану и вступают в прямой контакт с интерстициальным ВКМ. Эти мигрирующие активированные эпителиальные клетки могут вызвать активацию стромальных клеток непосредственно или с помощью паракринных сигналов, что приводит к приобретению стромой “праймированного” или “активированного” состояния. Накапливаются данные о том, что активированная строма способствует прогрессированию опухоли (Beacham, Cukierman, 2005; Sherman et al., 2014).

Случайное изотропное расположение фибриллярных компонентов ВКМ указывает на “нормальную” (покоящуюся или гомеостатическую) паренхиму, тогда как организованное, анизотропное расположение относительно прямых волокон ВКМ является признаком патологического микроокружения (Provenzano et al., 2006; Goetz et al., 2011). Такой

вид расположения фибрилл (прямые (анизотропные)) наблюдается при фиброзе и в строме, ассоциированной с эпителиальными опухолями (Rybinski et al., 2014), и свидетельствуют о плохом прогнозе пациента. Выровненные стромальные элементы ВКМ *in vivo* служат естественными “тропами”, по которым мигрируют раковые клетки (Condeelis, Segall, 2003; Provenzano et al., 2006). Изменения, заключающиеся в выравнивании структурных коллагеновых волокон, связанные с туморогенезом, называют опухоль-ассоциированными коллагеновыми сигнатурами, которые можно визуализировать *in vivo* с помощью генерации второй гармоники поляризованного света (Conklin et al., 2011). Линеаризацию и параллельное выравнивание фибрилл ВКМ наблюдали также *in vitro*, когда для получения ВКМ использовали фибробласты, выделенные из опухолевых тканей (Amatangelo et al., 2005; Lee et al., 2011).

Ассоциированные с опухолью фибробласты (CAFs), являются основными производителями интерстициального ВКМ. Опухолевые клетки и активированные стромальные клетки могут регулировать выравнивание фибрилл матрикса, высвобождая все большее количество протеаз и вспомогательных факторов роста, которые вызывают изменения в ВКМ (Cukierman, Bassi, 2010; Goetz et al., 2011). Специфический ВКМ, синтезируемый CAFs, как правило, содержит высокие уровни коллагена I и онкофетальных сплайсинговых вариантов фибронектина, таких как ED-A, а также множество матриксных клеточных белков, таких как периостин (Cirri, Chiarugi, 2011).

PDAC характеризуются устойчивым фибро-воспалительным ответом. Эта десмопластическая реакция генерирует необычайно высокое давление интерстициальной жидкости и индуцирует сосудистый коллапс, представляя при этом существенную преграду для перфузии, диффузии и конвекции низкомолекулярных терапевтических средств. Ряд авторов идентифицируют гиалуронан, как первичный матричный детерминант этого барьера (Provenzano et al., 2012). Повышение уровня специфических компонентов ВКМ происходит при различных подтипах рака и может быть использовано в качестве прогностического показателя. Например, повышенная секреция гиалуронана активированными фибробластами обычно наблюдается при раке поджелудочной железы и, как известно, способствует росту опухоли (Kultti et al., 2014).

## РОЛЬ АКТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК СТРОМЫ В РАЗВИТИИ PDAC

После десятилетий исследований эпителиального и стромального компонентов опухоли стало ясно, что плотная фиброзная строма играет активную роль в процессе развития PDAC. Перекрестные взаимосвязи между опухолевыми и стромальными компонентами очень сложны, и фактическая функция

плотной стромы, окружающей опухоль, оставалась в значительной степени неизвестной до тех пор, пока не стали накапливаться результаты исследований звездчатых клеток стромы поджелудочной железы (Apte et al., 1998; Vachem et al., 1998). Известно и описано участие клеток различных типов МОО в индукции десмопластических реакций в ВКМ при раке поджелудочной железы. К ним относятся звездчатые клетки поджелудочной железы (PSCs), ассоциированные с раком фибробласты (CAF), эндотелиальные клетки, иммунные клетки, нервные клетки. МОО подвержено динамическим изменениям, которые в совокупности с активностью нескольких онкогенных сигнальных каскадов приводят к прогрессированию опухоли PDAC (Quail, Joyce, 2013). Стромальные изменения в первую очередь обусловлены активацией тканерезидентных PSCs, и поэтому именно они рассматриваются как основные клетки, стимулирующие прогресс стромальной активации и прогрессирование PDAC (Thomas, Radhakrishnan, 2014).

Существование PSCs, для которых характерно наличие витамин-А-содержащих липидных капель, в ткани поджелудочной железы было впервые описано в 1982 г., но попытки их культивировать были предприняты значительно позже (Watari et al., 1982; Vachem et al., 1998). Происхождение их остается до конца не выясненным. К настоящему времени описано происхождение PSCs из клеток эндодермы, мезодермы, нейро-эктодермы и костного мозга (Watanabe et al., 2009; Yamamoto et al., 2017). Несмотря на то, что PSCs экспрессируют различные маркеры, схожие с маркерами стволовых клеток (Lardon et al., 2002), убедительных функциональных данных, доказывающих возможность дифференцировки PSCs в клетки другого типа поджелудочной железы, нет (Mato et al., 2009). PSCs способны замещать утраченные клеточные компоненты фиброзной тканью, которая необходима для поддержания целостности органа, но длительная их активация может привести к избыточному отложению матриксных белков и образованию рубцовой ткани (Phillips et al., 2003; Vachem et al., 2005).

Покоящиеся или инактивированные PSCs содержат ретинол, и поэтому они жизненно важны для поддержания тканевого гомеостаза. Интересно, что поддержание покоящегося фенотипа PSCs зависит от уровня витамина А, поскольку он ингибирует экспрессию  $\alpha$ -гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA), коллагена, фибронектина и ламинина (McCarroll et al., 2006). Покоящиеся PSCs обладают способностью продуцировать белки ВКМ, такие как десмин, виментин, и ферменты, разрушающие матрикс, а именно матриксные металлопротеиназы (ММП). Кроме того, они обладают способностью продуцировать тканевые ингибиторы ММП (TIMPs); следовательно, считается, что PSCs играют важную роль в поддержании баланса между образованием и деградацией матрикса и, следовательно, в поддержании нормальной архитектуры тканей (Masamune et al., 2009). Од-

нако многие внешние стимулы приводят к активации PSCs, которые трансформируются в клетки миофибробластоподобного фенотипа. Этот фенотипический переход коррелирует с функциональными и морфологическими изменениями. Эти изменения включают: потерю витамин-А-содержащих липидных капель; повышенную экспрессию  $\alpha$ -SMA; увеличение выработки коллагена, ламинина, нестина и фибронектина; снижение выработки десмина и виментина; увеличение выработки ВКМ; увеличение ядра; потерю баланса между MMP и TIMPs; секрецию различных цитокинов и хемокинов; усиление миграционного и пролиферативного потенциала (Arte et al., 2013).

Активированные PSCs приобретают веретенообразный фенотип, напоминающий фибробласты, проявляя повышенный миграционный и пролиферативный потенциал за счет увеличения продукции коллагеновых фибрилл и фибронектина. Кроме того, наличие промежуточных филаментных белков обеспечивает специфические характеристики PSCs, которые напоминают клетки других типов. Например, наличие глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) обеспечивает характеристики астроцитов; присутствие десмина напоминает миоциты, нестина — характеристику нейроэпителиальных стволовых клеток, а виментина — характеризует фибробластов и эндотелиальных клеток (Omary et al., 2004). Активированные PSCs могут подвергаться апоптозу или возвращаться к покою после прекращения повреждения ткани. Таким образом, поскольку фиброз поджелудочной железы регулируется как качественно, так и количественно персистирующей активацией PSCs, их можно рассматривать как основного участника биологических событий, приводящих к фиброзу.

В поджелудочной железе человека и грызунов активированные PSCs обычно обнаруживаются в местах обширных повреждений, их жизнедеятельность приводит к усилению выработки цитокинов и хемокинов и создает среду, благоприятную для воспалительной реакции (Kloppel et al., 2004). Внешние сигналы, опосредованные активными формами кислорода, приводят к активации PSCs аутокринными продуктами, такими как интерлейкины IL-1, IL-6 и факторы роста PDGF и TGF- $\beta$ . Активированные PSCs мигрируют к месту повреждения и в дальнейшем способствуют выработке аутокринных и паракринных продуктов. Стойкая активация PSCs реорганизует ВКМ и увеличивает десмоплазию (Thomas, Radhakrishnan, 2020).

Было показано, что 80% объема опухоли PDAC состоит из десмопластической стромы. Активированные PSCs и ассоциированные с раком CAFs являются основными клеточными компонентами стромы, т.е. окружения PDAC, и их влияние на поведение опухолевых клеток доказано (Vachem et al., 2005; Bailey et al., 2008). Подтверждены симбиотиче-

ские отношения между раковыми клетками и PSCs в стимулировании роста опухоли (Koninger et al., 2004). Однако как именно активированные PSCs и десмоплазия усиливают пролиферацию опухолевых клеток, остается неясным. Считается, что плотная фиброзная строма, окружающая опухоль, способствует выживанию опухолевых клеток и предотвращая апоптоз (Vaquero et al., 2003; Suklabaidya et al., 2018). Это может быть достигнуто путем прямого взаимодействия опухолевых клеток с белками ВКМ. Пролiferация опухолевых клеток требует значительных структурных изменений в МОО, включая повышенную продукцию компонентов ВКМ, таких как фибронектин и коллаген (Malik et al., 2015).

Активированные PSC и CAFs в МОО являются основными движущими силами этих архитектурных изменений микроокружения (Moir et al., 2015; Moir et al., 2018). Другой возможный механизм, с помощью которого активированные PSCs в МОО способствуют росту клеток аденокарциномы, заключается в том, что опухолевые клетки и PSCs продуцируют больше MMP и других тканевых сериновых протеаз, которые разрушают белки ВКМ и базальную мембрану, а это позволяет опухолевым клеткам мигрировать, инвазировать и метастазировать, как это было постулировано для других опухолей (Liotta, Kohn, 2001). Поскольку фиброз является ранним событием в процессе развития PDAC, первоначально считали, что строма, производимая PSCs, защищает от прогрессирования опухоли. Однако сейчас принято считать, что взаимодействия опухолевых клеток с PSCs стромы динамичны, зависят от стадии и клеточного контекста. PSCs могут защищать на самой ранней стадии развития метаплазии, и становиться очевидно вредными на более поздней стадии (Hamada et al., 2012; Wilson et al., 2014).

Работа Шермана с соавторами (Sherman et al., 2014) иллюстрирует, что транскрипционное ремоделирование стромы опухоли поджелудочной железы через активацию рецептора витамина D (VDR) в значительной степени ослабляет способность PSCs поддерживать рост опухоли. Эта работа описывает молекулярную стратегию, с помощью которой транскрипционное перепрограммирование опухолевой стромы обеспечивает химиотерапевтический ответ, и предлагает витамин D в качестве дополнения к терапии PDAC. Авторы (Sherman et al., 2014) обнаружили, что лечение лигандом VDR кальципотриолом заметно снижает уровень маркеров воспаления и фиброза при панкреатите и в строме опухоли человека. Другое исследование показало, что индуцированный ретиноевой кислотой покой PSCs снижает пролиферацию опухолевых клеток путем регулирования передачи сигналов Wnt (Froeling et al., 2011). Основываясь на иммуносупрессивной роли активированных PSCs, регулирующих миграцию Т-клеток, пришли к выводу, что эффективным способом противостоять опухоли может служить изменение функции PSCs (Ene-Obong et al., 2013).

Фибробласты (CAFs) наряду с PSCs являются важнейшим компонентом ассоциированной с опухолью стромы (Yoshida, 2020): CAFs способствуют регуляции ряда этапов, имеющих решающее значение для злокачественной прогрессии, включая инициацию рака, пролиферацию, инвазию и метастазирование, путем выработки различных типов цитокинов, хемокинов, факторов роста и ферментов, разрушающих матрицу (Kalluri, Zeisberg, 2006; LeBleu, Kalluri, 2018; Yoshida et al., 2019). CAFs отличаются от своих нормальных аналогов дифференциальной экспрессией таких маркеров, как  $\alpha$ -SMA, белок активации фибробластов (FAP), специфичный для фибробластов белок 1 (FSP1) и рецептор фактора роста тромбоцитов (PDGFR) (Kalluri, Zeisberg, 2006, 2016; LeBleu, Kalluri, 2018; Yoshida et al., 2019). CAFs изменяют МОО, непосредственно взаимодействуя с раковыми клетками и регулируя паракринную сигнализацию с помощью воспалительных цитокинов, контролируют иммунный ответ на неоплазию, депонируют различные компоненты ВКМ, стимулируют ангиогенез и обеспечивают основу для метастазирования и инвазии опухоли (LeBleu, Kalluri, 2018).

Однако клеточное происхождение CAFs и механизмы, лежащие в основе перепрограммирования нормальных фибробластов в CAFs, остаются в значительной степени неизвестными. Все больше доказательств, которые убедительно свидетельствуют о гетерогенности CAFs: они выполняют различные функции, а это значит, что в строме опухоли сосуществуют как способствующие развитию опухоли CAFs, так и CAFs, подавляющие ее рост (Ishii et al., 2016; LeBleu, Kalluri, 2018). В ткани аденокарциномы PDAC была идентифицирована специфическая субпопуляция CAFs, которая отличается от миофибробластных CAFs, для которых характерна экспрессия  $\alpha$ -SMA. Эти “воспалительные” CAFs экспрессируют провоспалительные цитокины, такие как интерлейкины IL-6 и IL-11, тем самым активируя JAK-киназу – преобразователь сигналов и активатор сигнального пути транскрипции STAT (Ohlund et al., 2017). Поскольку сигнальный каскад, индуцированный IL-1, активирует JAK/STAT и способствует образованию воспалительных CAFs (Biffi et al., 2019), сигнальный путь IL-1 $\alpha$  является потенциальной терапевтической мишенью для направленного уничтожения клеток и “воспалительных” CAFs в микроокружении опухоли PDAC.

Результаты экспериментов по уничтожению CAFs, экспрессирующих  $\alpha$ -SMA и нацеленных на десмопластический ответ, индуцированный сигнальным путем Hh (Ozdemir et al., 2014; Rhim et al., 2014), показали, что 80%-ное истощение популяции  $\alpha$ -SMA-положительных миофибробластов приводит к активированию программ эпителиально-мезенхимального перехода, связанной с увеличением количества раковых стволовых клеток и повышением экспрессии факторов транскрипции, связанных с ЭМП, таких как Snail, Slug и Twist. В клинике более

низкие показатели пропорции CAF в популяции клеток коррелируют со снижением выживаемости у пациентов с PDAC (Ozdemir et al., 2014). Использование мышинной модели PDAC с истощением по компонентам сигнального пути Shh показало, что активация Slug и Zeb1 приводит к плохому прогнозу (Rhim et al., 2014). Недавно показано, что при PDAC экспрессия ассоциированными с опухолью фибробластами мефлина (маркера мезенхимных стволовых клеток), поддерживающего их в недифференцированном состоянии (Maeda et al., 2016), замедляет рост опухоли. Выявили обратную корреляцию между уровнем  $\alpha$ -SMA и экспрессией мефлина в ассоциированных с PDAC фибробластах. Это говорит о том, что фенотипически CAFs с высоким содержанием мефлина отличаются от CAFs с высоким уровнем экспрессии  $\alpha$ -SMA, стимулирующих рост опухоли.

CAFs также способны облегчать коллективную миграцию и инвазию клеток путем ремоделирования ВКМ и создания путей для миграции опухолевых клеток и (или) экспрессии различных кадгеринов, которые позволяют клеткам сохранять адгезию, контролируя переднюю (заднюю) поляризацию ведущих (лидирующих) клеток (Olumi et al., 1999; Gaggioli et al., 2007; Labernadie et al., 2017). Физическая сила межклеточных взаимодействий раковых клеток и CAFs обеспечивается с помощью гетерофильного комплекса адгезии, включающего E-кадгерин на мембране раковых клеток и N-кадгерин на мембране CAFs.

#### ПОПЫТКИ ИСПОЛЬЗОВАТЬ PEGRN20 В ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ. ВЗЛЕТЫ И ПАДЕНИЯ

Поскольку было обнаружено, что плотная строма PDAC ассоциирована с гипоксией и лекарственной устойчивостью клеток, ожидается, что препараты, разрушающие строму, могут быть эффективны при терапии (Kozono et al., 2013; Gonzalez-Villasana et al., 2014; Pomianowska et al., 2014).

Как говорилось выше, эффективная доставка лекарств к клеткам опухолей поджелудочной железы является серьезной проблемой. В PDAC плотная фиброзная строма (образовавшаяся в процессе десмоплазии) окружает растущую опухолевую массу, но может также сжимать опухолевую сосудистую сеть в микроокружении и увеличивать интерстициальное давление, препятствуя перфузии и доставке системных агентов (Provenzano et al., 2012; Thompson et al., 2010; Singha et al., 2015; Whatcott et al., 2015). Гиалуронан, гидрофильный гликозаминогликан, является основным компонентом ВКМ и, как было показано, накапливается в микроокружении PDAC (Koyama et al., 2007; Itano et al., 2008; Damodarasamy et al., 2014; Evanko et al., 2015; Li et al., 2018).

Доклинические и клинические данные указывают на то, что накопление гиалуронана в МОО связано с агрессивным метастатическим заболеванием, лекарственной устойчивостью и плохим прогнозом (Koyama et al., 2007; Damodarasamy et al., 2014; Evancko et al., 2015; Foster et al., 2018; Li et al., 2018). Метаболизм гиалуронана динамичен и быстр, а деградация контролируется в основном гиалуронидазами (Kielty et al., 1992; Itano et al., 2008).

PEGPH20 – это новая модифицированная фрагментами полиэтиленгликоля форма рекомбинантной гиалуронидазы человека, разработанная в качестве препарата для противоопухолевой терапии в сочетании с другими системными методами лечения. PEGPH20 деградирует опухолевый гиалуронан, тем самым ремоделируя МОО и облегчая доставку цитостатиков к клеткам опухоли. На моделях PDAC и других опухолей PEGPH20 демонстрировала противоопухолевую активность и увеличивала эффективность доставки системных препаратов (Koyama et al., 2007; Damodarasamy et al., 2014; Willumsen et al., 2014; Hansen et al., 2016; Kehlet et al., 2016).

Комбинация PEGPH20 и гемцитабина оказалась хорошо переносима в исследованиях фазы I и продемонстрировала обнадеживающие терапевтические результаты при лечении PDAC с высоким содержанием гиалуронана. Недавно описанные результаты клинических исследований применения PEGPH20 для лечения пациентов с прогрессирующими солидными опухолями, в том числе раком поджелудочной железы согласовались с выводами доклинических исследований, и на основании этого была поддержана следующая стадия клинических исследований (Willumsen et al., 2013; Bager et al., 2015).

Результаты второй фазы клинических испытаний экспериментального препарата PEGPH20 были опубликованы в 2018 г. и продемонстрировали превосходную выживаемость без прогрессирования опухоли с высоким уровнем НА в группе PEGPH20 (9.2 против 5.2 мес. в группе плацебо) (Hingorani et al., 2018). В этом исследовании PEGPH20 или плацебо сочетали либо с Nab-паклитакселом (Nab-paclitaxel) и гемцитабином (HALO-202), либо с модифицированным фторурацилом (FU), лейковорином, ириноканом и оксалиплатином (mFOLFIRINOX; Southwest Oncology Group (SWOG) study S1313) (Wang-Gillam, 2019). Результаты исследования HALO-202 возродили энтузиазм в отношении стратегии таргетирования стромы после длительного периода отсутствия клинического успеха и проложили путь к первому рандомизированному исследованию фазы III, в котором участвовали пациенты только с опухолями PDAC с высоким содержанием гиалуронана (NA-high; HALO-301; ClinicalTrials.gov идентификатор: NCT02715804). Ванг с коллегами (Wang et al., 2018), проанализировав результаты испытания HALO-301, сообщили о значительном улучшении выживаемости без прогрессирования опухоли в слу-

чае добавления PEGPH20 в качестве усилителя терапевтического воздействия цитостатиков.

На фоне описанного выше успеха использования PEGPH20 в качестве вещества, модифицирующего строму опухоли, неожиданной стала неудача недавних исследований эффективности использования PEGPH20, примененного совместно с комплексом лекарственных препаратов mFOLFIRINOX (Ramanathan et al., 2019). Выживаемость пациентов в этих испытаниях была ниже в случае применения PEGPH20: 7.7 мес. по сравнению с 14.4 мес. в случае плацебо. Соответственно выживаемость без прогрессирования опухоли также была ниже (4.3 против 6.2 мес.). Такие результаты в группе с PEGPH20 были частично объяснены исследователями более высокой токсичностью комбинированного воздействия, которая требовала снижения дозы применяемых терапевтических агентов и общего снижения времени применения mFOLFIRINOX, что и привело к снижению эффективности проводимой терапии.

Результаты неудачного использования PEGPH20 в сочетании с mFOLFIRINOX существенно насторожили клиницистов, поставив вопрос о необходимости создания экспериментальной модели для будущих исследований ремоделирования стромы опухоли. Очевидные расхождения между результатами доклинических и клинических исследований PDAC объясняются в частности и тем, что ни одна из существующих экспериментальных моделей сама по себе не является адекватной.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При лечении PDAC вещества, нацеленные на модификацию стромы, следует рекомендовать к использованию с большой осторожностью, учитывая отрицательные результаты второй фазы клинических испытаний действия ингибиторов сигнального пути Hedgehog (визмодегиба и саредигиба) в сочетании с гемцитабином недавнего рандомизированного исследования (Catenacci et al., 2015; The Olive Laboratory: Clinical trial IPI-926-03. <https://www.olivelab.org/ipi-926-03>). Необходимо учитывать, что перепрограммирование опухолевой стромы и увеличение функционирующей сосудистой сети может и создать окно для терапевтической доставки, и повысить потенциал для распространения опухолевых клеток по кровотоку.

Действительно, недавняя неудача клинических исследований терапевтического потенциала ингибирования Shh-сигнального пути в комбинации с гемцитабином при раке поджелудочной железы выявила потенциальные ограничения терапии, направленной на истощение стромы. Было обнаружено, что уменьшение десмоплазии стромы усиливает рост опухоли и приводит к снижению выживаемости (Rhim et al., 2014). Эти исследования убедительно свидетельствуют о том, что вместо стремления

устранить десмоплазию, эффективнее стала бы попытка нормализовать ВКМ, ассоциированный с опухолью стромы, путем уменьшения его жесткости или изменения “выровненных” фибрилл ВКМ в строме опухоли. Хотя концепция использования нормальной стромы для сдерживания прогрессирования рака была предложена уже давно, только недавно идею восстановления нормальной стромы стали рассматривать как потенциальную терапевтическую стратегию лечения рака.

В целом, однако, препараты-промоторы остаются перспективным инструментом повышения эффективности существующих или будущих противоопухолевых методов лечения. Они представляют ценность для различных классов эффекторных препаратов как низкомолекулярных цитотоксических, так и макромолекулярных или нано-препаратов. В частности, их потенциал может иметь особое значение для ограничения накопления в гипоксической нише популяции стволовых опухолевых клеток, которые, как известно, не восприимчивы к цитотоксическим эффекторным препаратам. Поэтому ожидается, что вспомогательные препараты, усиливающие действие цитостатиков, займут достойное место в терапевтическом арсенале борьбы с раком. Напомним в этой связи, что потенциальная терапевтическая польза ингибирования гиалуроновой кислоты в комплексе с химиопрепаратами достигается, в первую очередь, за счет преодоления стромального барьера для сенсibiliзирующей химиотерапии, а не за счет ее собственного противоопухолевого эффекта.

В настоящее время при лечении PDAC применяются три основные стратегии, нацеленные на гиалуронан, описанные Сато с коллегами (Sato et al., 2016): 1) ингибирование синтеза гиалуронана, 2) блокирование передачи сигналов рецепторов гиалуронана и 3) истощение стромального гиалуронана в сочетании с химиотерапией. В дополнение к этим стратегиям могут существовать и другие потенциальные стратегии таргетирования гиалуронана для лечения PDAC. Например, ингибирование деградации, а также синтеза гиалуронана может быть идеальной стратегией, поскольку накопленные данные свидетельствуют о том, что низкомолекулярная или фрагментированная гиалуроновая кислота, продуцируемая в результате деградации гиалуронидазой, может вносить вклад в прогрессирование рака (Schmaus et al., 2014; Wu et al., 2015). Опубликованные исследования показали противоопухолевое действие ингибиторов гиалуронидазы при некоторых видах рака (Benitez et al., 2011; Huang et al., 2014). При безусловной необходимости дальнейших доклинических и клинических исследований, контроль количества и размера гиалуроновой кислоты путем модуляции процесса ее выработки и деградации остается перспективной терапевтической стратегией для улучшения прогноза такого смертельно опасного заболевания, как PDAC.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена за счет бюджетных средств Института цитологии РАН.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В работе не участвовали животные или люди в качестве объектов исследования.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Amatangelo M.D., Bassi D.E., Klein—Szanto A.J., Cukierman E.* 2005. Stroma-derived three-dimensional matrices are necessary and sufficient to promote desmoplastic differentiation of normal fibroblasts. *Am. J. Pathol.* V. 167. P. 475.
- Apte M.V., Haber P.S., Applegate T.L., Norton I.D., McCaughan G.W., Korsten M.A., Pirola R.C., Wilson J.S.* 1998. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut.* V.43. P. 128.
- Apte M.V., Wilson J.S., Lugea A., Pandol S.J.* 2013. A starring role for stellate cells in the pancreatic cancer microenvironment. *Gastroenterol.* V. 144. P. 1210.
- Bachem M.G., Schneider E., Gross H, Weidenbach H., Schmid R.M., Menke A., Siech M., Beger H., Grünert A., Adler G.* 1998. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterol.* V. 115. P. 421.
- Bachem M.G., Schünemann M., Ramadani M., Siech M., Beger H., Buck A., Zhou.S, Schmid-Kotsas A., Adler G.* 2005. Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells. *Gastroenterol.* V. 128. P. 907.
- Badylak S.F., Freytes D.O., Gilbert T.W.* 2009. Extracellular matrix as a biological scaffold material: structure and function. *Acta Biomater.* V. 5. P. 1.
- Bager C.L., Willumsen N., Leeming D.J., Smith V, Karsdal M.A., Dornan D., Bay-Jensen A.C.* 2015. Collagen degradation products measured in serum can separate ovarian and breast cancer patients from healthy controls: a preliminary study. *Cancer Biomark.* V. 15. P. 783.
- Beacham D.A., Cukierman E.* 2005. Stromagenesis: The changing face of fibroblastic microenvironments during tumor progression. *Cancer Biol.* V. 15. P. 329.
- Benitez A., Yates T.J., Lopez L.E., Cerwinka W.H., Bakkar A., Lokeshwar V.B.* 2011. Targeting hyaluronidase for cancer therapy: Antitumor activity of sulfated hyaluronic acid in prostate cancer cells. *Cancer Res.* V. 71. P. 4085.
- Biffi G., Oni T.E., Spielman B., Hao Y., Elyada E., Park Y., Preall J., Tuveson D.A.* 2019. IL1-induced JAK/STAT signaling is antagonized by TGFbeta to shape CAF heterogeneity in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Discov.* V. 9. P. 282.
- Brekken C., Bruland O.S., De Lange Davies C.* 2000. Interstitial fluid pressure in human osteosarcoma xenografts: significance of implantation site and the response to intratumoral injection of hyaluronidase. *Anticancer Res.* V. 20. P. 3503.

- Catenacci D.V., Junttila M.R., Karrison T., Bahary N., Horiba M.N., Nattam S.R., Marsh R., Wallace J., Kozloff M., Rajdev L., Cohen D., Wade J., Sleckman B., Lenz H.J., Stiff P. et al.* 2015. Randomized phase Ib/II study of gemcitabine plus placebo or vismodegib, a Hedgehog pathway inhibitor, in patients with metastatic pancreatic cancer. *J. Clin. Oncol.* V. 33. P. 4284.
- Cirri P., Chiarugi P.* 2011. Cancer associated fibroblasts: the dark side of the coin. *Am. J. Cancer Res.* V. 1. P. 482.
- Condeelis J., Segall J.E.* 2003. Intravital imaging of cell movement in tumours. *Nat. Rev. Cancer.* V. 3. P. 921.
- Conklin M.W., Eickhoff J.C., Riching K.M., Pehlke C.A., Eliceiri K.W., Provenzano P.P., Friedl A., Keely P.J.* 2011. Aligned collagen is a prognostic signature for survival in human breast carcinoma. *Am. J. Pathol.* V. 178. P. 1221.
- Conroy T., Desseigne F., Ychou M., Bouché O., Guimbaud R., Bécauarn Y., Adenis A., Raoul J.L., Gourgou-Bourgade S., de la Fouchardière C., Bennouna J., Bachet J.B., Khemissa-Akouz F., Péré-Vergé D. et al.; Groupe Tumeurs Digestives of Unicancer; PRODIGE Intergroup.* 2011. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* V. 364. P. 1817.
- Cukierman E., Bassi D.E.* 2010. Physico-mechanical aspects of extracellular matrix influences on tumorigenic behaviors. *Semin. Cancer Biol.* V. 20. P. 139.
- Damodarasamy M., Johnson R.S., Bentov I., MacCoss M.J., Vernon R.B., Reed M.J.* 2014. Hyaluronan enhances wound repair and increases collagen III in aged dermal wounds. *Wound Repair Regen.* V. 22. P. 521.
- Ene-Obong A., Clear A.J., Watt J., Wang J., Fatah R., Riches J.C., Marshall J.F., Chin-Aleong J, Chelala C., Gribben J.G., Ramsay A.G., Kocher H.M.* 2013. Activated pancreatic stellate cells sequester CD8+ T cells to reduce their infiltration of the juxtatumoral compartment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterol.* V. 145. P. 1121.
- Evanko S.P., Potter-Perigo S., Petty L.J., Workman G.A., Wight T.N.* 2015. Hyaluronan controls the deposition of fibronectin and collagen and modulates TGF- $\beta$ 1 induction of lung myofibroblasts. *Matrix Biol.* V. 42. P. 74.
- Foster D.S., Jones R.E., Ransom R.C., Longaker M.T., Norton J.A.* 2018. The evolving relationship of wound healing and tumor stroma. *JCI Insight.* V. 8. P. 1.
- Froeling F.E., Feig C., Chelala C., Dobson R., Mein C.E., Tuveson D.A., Clevers H., Hart I.R., Kocher H.M.* 2011. Retinoic acid-induced pancreatic stellate cell quiescence reduces paracrine Wnt- $\beta$ -catenin signaling to slow tumor progression. *Gastroenterol.* V. 141. P. 1486.
- Gaggioli C., Hooper S., Hidalgo-Carcedo C., Grosse R., Marshall J.F., Harrington K., Sahai E.* 2007. Fibroblast-led collective invasion of carcinoma cells with differing roles for RhoGTPases in leading and following cells. *Nat. Cell Biol.* V. 9. P. 1392.
- Geiger B., Yamada K.M.* 2011. Molecular architecture and function of matrix adhesions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* V. 3. P. a005033. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005033>
- Goetz J.G., Minguet S., Navarro-Lérida I, Lazcano J.J., Samaniego R., Calvo E., Tello M., Osteso-Ibáñez T., Pellinen T., Echarri A., Cerezo A., Klein-Szanto A.J., Garcia R., Keely P.J., Sánchez-Mateos P., Cukierman E., Del Pozo M.A.* 2011. Biomechanical remodeling of the microenvironment by stromal caveolin-1 favors tumor invasion and metastasis. *Cell.* V. 146. P. 148.
- Gonzalez-Villasana V., Rodriguez-Aguayo C., Arumugam T., Cruz-Monserrate Z., Fuentes-Mattei E., Deng D., Hwang R.F., Wang H., Ivan C., Garza R.J., Cohen E., Gao H, Armaiz-Pena G.N, Del C. Monroig-Bosque P., Philip B. et al.* 2014. Bisphosphonates inhibit stellate cell activity and enhance antitumor effects of nanoparticle albumin-bound paclitaxel in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol. Cancer Ther.* V. 13. P. 2583.
- Hamada S., Masamune A., Takikawa T., Suzuki N., Kikuta K., Hirota M., Hamada H., Kobune M., Satoh K., Shimosegawa T.* 2012. Pancreatic stellate cells enhance stem cell-like phenotypes in pancreatic cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 421. P. 349.
- Hansen N.U.B., Willumsen N., Sand J.M.B., Larsen L., Karsdal M.A., Leeming D.J.* 2016. Type VIII collagen is elevated in diseases associated with angiogenesis and vascular remodeling. *Clin. Biochem.* V. 49. P. 903.
- Hidalgo M.* 2010. Pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* V. 362. P. 1605.
- Hingorani S.R., Zheng L., Bullock A.J., Seery T.E., Harris W.P., Sigal D.S., Braiteh F., Ritch P.S., Zalupski M.M., Bahary N., Oberstein P.E., Wang-Gillam A., Wu W., Chondros D., Jiang P. et al.* 2018. HALO 202: Randomized phase II study of PEGPH20 plus nab-paclitaxel/gemcitabine versus nab-paclitaxel/gemcitabine in patients with untreated, metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma. *J. Clin. Oncol.* V. 36. P. 359.
- Ho W.J., Jaffee E.M., Zheng L.* 2020. The tumour microenvironment in pancreatic cancer – clinical challenges and opportunities. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* V. 17. P. 527.
- Hollingsworth M.A.* 2008. Sonic hedgehog promotes desmoplasia in pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res.* V. 14. P. 5995.
- Huang R.Y., Chu Y.L., Jiang Z.B., Chen X.M., Zhang X., Zeng X.* 2014. Glycyrrhizin suppresses lung adenocarcinoma cell growth through inhibition of thromboxane synthase. *Cell. Physiol. Biochem.* V. 33. P. 375.
- Ishii G., Ochiai A., Neri S.* 2016. Phenotypic and functional heterogeneity of cancer-associated fibroblast within the tumor microenvironment. *Adv. Drug Deliv. Rev.* V. 99. P. 186.
- Itano N., Zhuo L., Kimata K.* 2008. Impact of the hyaluronan-rich tumor microenvironment on cancer initiation and progression. *Cancer Sci.* V. 99. P. 1720-5. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2008.00885.x>
- Jacobetz M.A., Chan D.S., Nesses A., Bapiro T.E., Cook N., Frese K.K., Feig C., Nakagawa T., Caldwell M.E., Zecchini H.I., Lolkema M.P., Jiang P., Kultti A., Thompson C.B., Maneval D.C. et al.* 2013. Hyaluronan impairs vascular function and drug delivery in a mouse model of pancreatic cancer. *Gut.* V. 62. P. 112.
- Kalluri R.* 2003. Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer.* V. 3. P. 422.
- Kalluri R, Zeisberg M.* 2006. Fibroblasts in cancer. *Nat. Rev. Cancer.* V. 6. P. 392.
- Kalluri R, Zeisberg R.* 2016. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat. Rev. Cancer.* V. 16. P. 582.
- Kehlet S.N., Sanz-Pamplona R., Brix S., Leeming D.J., Karsdal M.A., Moreno V.* 2016. Excessive collagen turnover products are released during colorectal cancer progression

- and elevated in serum from metastatic colorectal cancer patients. *Sci. Rep.* V. 6. P. 30599.
- Kielty C.M., Whittaker S.P., Grant M.E., Shuttleworth C.A.* 1992. Type VI collagen microfibrils: evidence for a structural association with hyaluronan. *J. Cell Biol.* V. 118. P. 979.
- Kleeff J., Korc M., Apte M., La Vecchia C., Johnson C.D., Biankin A.V., Neale R.E., Tempero M., Tuveson D.A., Hruban R.H., Neoptolemos J.P.* 2016. Pancreatic cancer. *Nat. Rev. Dis. Primers.* V. 2. P. 16022.
- Kloppel G., Detlefsen S., Feyerabend B.* 2004. Fibrosis of the pancreas: The initial tissue damage and the resulting pattern. *Virchows Arch.* V. 445. P. 1.
- Koninger J., Giese T., di Mola F.F., Wente M.N., Esposito I., Bachem M.G., Giese N.A., Buchler M.W., Friess H.* 2004. Pancreatic tumor cells influence the composition of the extracellular matrix. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 322. P. 943.
- Koyama H., Hibi T., Isogai Z., Yoneda M., Fujimori M., Amano J., Kawakubo M., Kannagi R., Kimata K., Taniguchi S., Itano N.* 2007. Hyperproduction of hyaluronan in Neu-induced mammary tumor accelerates angiogenesis through stromal cell recruitment: Possible involvement of versican/PG-M. *Am. J. Pathol.* V. 170. P. 1086.
- Kozono S., Ohuchida K., Eguchi D., Ikenaga N., Fujiwara K., Cui L., Mizumoto K., Tanaka M.* 2013. Pirfenidone inhibits pancreatic cancer desmoplasia by regulating stellate cells. *Cancer Res.* V. 73. P. 2345.
- Kulti A., Zhao C., Singha N.C., Zimmerman S., Osgood R.J., Symons R., Jiang P., Li X., Thompson C.B., Infante J.R., Jacobetz M.A., Tuveson D.A., Frost G.I., Shepard H.M., Huang Z.* 2014. Accumulation of extracellular hyaluronan by hyaluronan synthase 3 promotes tumor growth and modulates the pancreatic cancer microenvironment. *BioMed. Res. Int.* V. 2014. P. 817613.
- Labernadie A., Kato T., Bruges A., Serra-Picamal X., Derzsi S., Arwert E., Weston A., Gonzalez-Tarrago V., Elosegui-Artola A., Albertazzi L., Alcaraz J., Roca-Cusachs P., Sahai E., Treppe X.* 2017. A mechanically active heterotypic E-cadherin/N-cadherin adhesion enables fibroblasts to drive cancer cell invasion. *Nat. Cell Biol.* V. 19. P. 224.
- Lardon J., Rooman I., Bouwens L.* 2002. Nestin expression in pancreatic stellate cells and angiogenic endothelial cells. *Histochem. Cell Biol.* V. 117. P. 535.
- LeBleu V.S., Kalluri R.* 2018. A peek into cancer-associated fibroblasts: origins, functions and translational impact. *Dis. Model. Mech.* V.11. P. dmm 029447. <https://doi.org/10.1242/dmm.029447>
- Lee H.O., Mullins S.R., Franco-Barraza J., Valianou M., Cukierman E., Cheng J.D.* 2011. FAP-overexpressing fibroblasts produce an extracellular matrix that enhances invasive velocity and directionality of pancreatic cancer cells. *BMC Cancer.* V. 11. P. 245.
- Li X., Shepard H.M., Cowell J.A., Zhao C., Osgood R.J., Rosengren S., Blouw B., Garrovillo S.A., Pagel M.D., Whatcott C.J., Han H., Von Hoff D.D., Taverna D.M., LaBarre M.J., Manneval D.C., Thompson C.B.* 2018. Parallel accumulation of tumor hyaluronan, collagen, and other drivers of tumor progression. *Clin. Cancer Res.* V. 24. P. 4798.
- Liotta L.A., Kohn E.C.* 2001. The microenvironment of the tumour-host interface. *Nature.* V. 411. P. 375.
- Maeda K., Enomoto A., Hara A., Asai N., Kobayashi T., Horinouchi A., Maruyama S., Ishikawa Y., Nishiyama T., Kiyoi H., Kato T., Ando K., Weng L., Mii S., Asai M. et al.* 2016. Identification of Mefflin as a potential marker for Mesenchymal stromal cells. *Sci. Rep.* V. 6. P. 22288.
- Malik R., Lelkes P.I., Cukierman E.* 2015. Biomechanical and biochemical remodeling of stromal extracellular matrix in cancer. *Trends Biotechnol.* V. 33. P. 230.
- Masamune A., Watanabe T., Kikuta K., Shimosegawa T.* 2009. Roles of pancreatic stellate cells in pancreatic inflammation and fibrosis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* V. 7. P. S48.
- Mato E., Lucas M., Petriz J., Gomis R., Novials A.* 2009. Identification of a pancreatic stellate cell population with properties of progenitor cells: new role for stellate cells in the pancreas. *Biochem. J.* V. 421. P. 181.
- McCarroll J.A., Phillips P.A., Santucci N.C., Pirola R., Wilson J.S., Apte M.V.* 2006. Vitamin A inhibits pancreatic stellate cell activation: Implications for treatment of pancreatic fibrosis. *Gut.* V. 55. P. 79.
- Moir J.A., Mann J., White S.A.* 2015. The role of pancreatic stellate cells in pancreatic cancer. *Surg. Oncol.* V. 24. P. 232.
- Moir L., Ye H., Li G., Lu Y., Zhou Q., Zheng S., Lin Q., Liu Y., Li Z., Chen R.* 2018. Cancer-associated fibroblasts promote progression and gemcitabine resistance via the SDF-1/SATB-1 pathway in pancreatic cancer. *Cell Death Dis.* V. 9. P. 1065.
- Ohlund D., Handly-Santana A., Biffi G., Elyada E., Almeida A.S., Ponz-Sarvisé M., Corbo V., Oni T.E., Hearn S.A., Lee E.J., Chio II., Hwang C.I., Tiriac H., Baker L.A., Engle D.D. et al.* 2017. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer. *J. Exp. Med.* V. 214. P. 579.
- Olumi A.F., Grossfeld G.D., Hayward S.W., Carroll P.R., Tlsty T.D., Cunha G.R.* 1999. Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. *Cancer Res.* V. 59. P. 5002.
- Omary M.B., Coulombe P.A., McLean W.H.* 2004. Intermediate filament proteins and their associated diseases. *N. Engl. J. Med.* V. 351. P. 2087.
- Ozdemir B.C., Pentcheva-Hoang T., Carstens J.L., Zheng X., Wu C.C., Simpson T.R., Laklai H., Sugimoto H., Kahlert C., Novitskiy S.V., De Jesus-Acosta A., Sharma P., Heidari P., Mahmood U., Chin L. et al.* 2014. Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell.* V. 25. P. 719.
- Paszek M.J., Zahir N., Johnson K.R., Lakins J.N., Rozenberg G.I., Gefen A., Reinhart-King C.A., Margulies S.S., Dembo M., Boettiger D., Hammer D.A., Weaver V.M.* 2005. Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer Cell.* V. 8. P. 241.
- Phillips P.A., McCarroll J.A., Park S., Wu M.J., Pirola R., Korsten M., Wilson J.S., Apte M.V.* 2003. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: Implications for extracellular matrix turnover. *Gut.* V. 52. P. 275.
- Pomianowska E., Sandnes D., Grzyb K., Schjølberg A.R., Aasrum M., Tveteraas I.H., Tjomsland V., Christoffersen T., Gladhaug I.P.* 2014. Inhibitory effects of prostaglandin E2 on collagen synthesis and cell proliferation in human stellate cells from pancreatic head adenocarcinoma. *BMC Cancer.* V. 14. P. 413.

- Provenzano P.P., Eliceiri K.W., Campbell J.M., Inman D.R., White J.G., Keely P.J.* 2006. Collagen reorganization at the tumor-stromal interface facilitates local invasion. *BMC Med.* V. 4. P. 38.
- Provenzano P.P., Inman D.R., Eliceiri K.W., Trier S.M., Keely P.J.* 2008. Contact guidance mediated three-dimensional cell migration is regulated by Rho/ROCK-dependent matrix reorganization. *Biophys. J.* V. 95. P. 5374.
- Provenzano P.P., Cuevas C., Chang A.E., Goel V.K., Von Hoff D.D., Hingorani S.R.* 2012. Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell.* V. 21. P. 418.
- Quail D.F., Joyce J.A.* 2013. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat. Med.* V. 9. P. 1423.
- Rahib L., Smith B.D., Aizenberg R., Rosenzweig A.B., Fleshman J.M., Matrisian L.M.* 2014. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: The unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res.* V. 74. P. 2913.
- Ramanathan R.K., McDonough S.L., Philip P.A., Hingorani S.R., Lacy J., Kortmansky J.S., Thumar J., Chiorean E.G., Shields A.F., Behl D., Mehan P.T., Gaur R., Seery T., Guthrie K.A., Hochster H.S.* 2019. Phase IB/II randomized study of FOLFIRINOX plus pegylated recombinant human hyaluronidase versus FOLFIRINOX alone in patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma: SWOG S1313. *J. Clin. Oncol.* V. 37. P. 1062.
- Rhim A.D., Oberstein P.E., Thomas D.H., Mirek E.T., Palermo C.F., Sastra S.A., Dekleva E.N., Saunders T., Becerra C.P., Tattersall I.W., Westphalen C.B., Kitajewski J., Fernandez-Barrena M.G., Fernandez-Zapico M.E., Jacobuzio-Donahue C., Olive K.P., Stanger B.Z.* 2014. Stromal elements act to restrain, rather than support, pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell.* V. 25. P. 735.
- Rybinski B., Franco-Barraza J., Cukierman E.* 2014. The wound healing, chronic fibrosis, and cancer progression triad. *Physiol. Genomics.* V. 46. P. 223.
- Sato N., Cheng X-B., Kogi S., Koga A., Hirata K.* 2016. Targeting hyaluronan for the treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Acta Pharm. Sin.* B. V. 6. P. 101.
- Schmaus A., Klusmeier S., Rothley M., Dimmler A., Sipos B., Fallner G., Thiele W., Allgayer H., Hohenberger P., Post S., Sleeman J.P.* 2014. Accumulation of small hyaluronan oligosaccharides in tumour interstitial fluid correlates with lymphatic invasion and lymph node metastasis. *Br. J. Cancer.* V. 111. P. 559.
- Sherman M.H., Yu R.T., Engle D.D., Ding N., Atkins A.R., Tiriack H., Collisson E.A., Connor F., Van Dyke T., Kozlov S., Martin P., Tseng T.W., Dawson D.W., Donahue T.R., Masamune A. et al.* 2014. Vitamin D receptor-mediated stromal reprogramming suppresses pancreatitis and enhances pancreatic cancer therapy. *Cell.* V. 159. P. 80.
- Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A.* 2018. Cancer statistics, 2018. *CA: Cancer J. Clin.* V. 68. P. 7.
- Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A.* 2019. Cancer statistics, 2019. *CA: Cancer J. Clin.* V. 69. P. 7.
- Singha N.C., Nekoroski T., Zhao C., Symons R., Jiang P., Frost G.I., Huang Z., Shepard H.M.* 2015. Tumor-associated hyaluronan limits efficacy of monoclonal antibody therapy. *Mol. Cancer Ther.* V. 14. P. 523.
- Suklabaidya S., Dash P., Das B., Suresh V., Sasmal P.K., Senapati S.* 2018. Experimental models of pancreatic cancer desmoplasia. *Lab. Invest.* V. 98. P. 27.
- Thomas D., Radhakrishnan P.* 2014. Tumor-stromal crosstalk in pancreatic cancer and tissue fibrosis. *Mol. Cancer.* V. 18. P. 14.
- Thomas D., Radhakrishnan P.* 2020. Pancreatic stellate cells: the key orchestrator of the pancreatic tumor microenvironment. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 1234. P. 57.
- Thompson C.B., Shepard H.M., O'Connor P.M., Kadhim S., Jiang P., Osgood R.J., Bookbinder L.H., Li X., Sugarman B.J., Connor R.J., Nadsombati S., Frost G.I.* 2010. Enzymatic depletion of tumor hyaluronan induces antitumor responses in preclinical animal models. *Mol. Cancer Ther.* V. 9. P. 3052.
- Toole B.P., Slomiany M.G.* 2008. Hyaluronan: A constitutive regulator of chemoresistance and malignancy in cancer cells. *Semin. Cancer Biol.* V. 18. P. 244.
- Vaquero E.C., Edderkaoui M., Nam K.J., Gukovsky I., Pandol S.J., Gukovskaya A.S.* 2003. Extracellular matrix proteins protect pancreatic cancer cells from death via mitochondrial and nonmitochondrial pathways. *Gastroenterol.* V. 125. P. 1188.
- Von Hoff D.D., Ervin T., Arena F.P., Chiorean E.G., Infante J., Moore M., Seay T., Tjuland S.A., Ma W.W., Saleh M.N., Harris M., Reni M., Dowden S., Laheru D., Bahary N. et al.* 2013. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *N. Engl. J. Med.* V. 369. P. 1691.
- Wang S., Willumsen N., Cecilie B., Karsdal M., Chondros D., Taverna D.* 2018. Extracellular matrix (ECM) circulating peptide biomarkers as potential predictors of survival in patients (pts) with untreated metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma (mPDA) receiving pegvorhyaluronidase alfa (PEGPH20), nab-paclitaxel (a), and gemcita. *J. Clin. Oncol.* V. 36. P. 12030.
- Wang-Gillam A.* 2019. Targeting stroma: A tale of caution. *J. Clin. Oncol.* V. 37. P. 1041.
- Watanabe T., Masamune A., Kikuta K., Hirota M., Kume K., Satoh K., Shimosegawa T.* 2009. Bone marrow contributes to the population of pancreatic stellate cells in mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* V. 297. P. G1138.
- Watari N., Hotta Y., Mabuchi Y.* 1982. Morphological studies on a vitamin A-storing cell and its complex with macrophage observed in mouse pancreatic tissues following excess vitamin A administration. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* V. 58. P. 837.
- Whitcott C.J., Diep C.H., Jiang P., Watanabe A., LoBello J., Sima C., Hostetter G., Shepard H.M., Von Hoff D.D., Han H.* 2015. Desmoplasia in primary tumors and metastatic lesions of pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res.* V. 21. P. 3561.
- Willumsen N., Bager C.L., Leeming D.J., Smith V., Karsdal M.A., Dornan D., Bay-Jensen A.C.* 2013. Extracellular matrix specific protein fingerprints measured in serum can separate pancreatic cancer patients from healthy controls. *BMC Cancer.* V. 13. P. 1.
- Willumsen N., Bager C.L., Leeming D.J., Smith V., Christiansen C., Karsdal M.A., Dornan D., Bay-Jensen A.C.* 2014. Serum biomarkers reflecting specific tumor tissue remodeling processes are valuable diagnostic tools for lung cancer. *Cancer Med.* V. 3. P. 1136.

- Wilson J.S., Pirola R.C., Apte M.V. 2014. Stars and stripes in pancreatic cancer: Role of stellate cells and stroma in cancer progression. *Front Physiol.* V. 5. P. 52.
- Wu M., Cao M., He Y., Liu Y., Yang C., Du Y., Wang W., Gao F. 2015. A novel role of low molecular weight hyaluronan in breast cancer metastasis. *FASEB J.* V. 29. P. 1290.
- Yamamoto G., Taura K., Iwaisako K., Asagiri M., Ito S., Koyama Y., Tanabe K., Iguchi K., Satoh M., Nishio T., Okuda Y., Ikeno Y., Yoshino K., Seo S., Hatano E., Uemoto S. 2017. Pancreatic stellate cells have distinct characteristics from hepatic stellate cells and are not the unique origin of collagen-producing cells in the pancreas. *Pancreas.* V. 46. P. 1141.
- Yoshida G.J. 2020. Regulation of heterogeneous cancer-associated fibroblasts: The molecular pathology of activated signaling pathways. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* V. 39. P.112.
- Yoshida G.J., Azuma A., Miura Y., Orimo A. 2019. Activated fibroblast program orchestrates tumor initiation and progression; molecular mechanisms and the associated therapeutic strategies. *Int. J. Mol. Sci.* V. 20. P. 2256.

## The Role of Activated Stromal Cells in the Development of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Therapeutic Approaches to Stroma Remodeling

I. V. Rykov<sup>a</sup>, E. G. Solonitsyn<sup>a</sup>, T. M. Shestopalova<sup>b</sup>, I. I. Gin<sup>c</sup>, and E. N. Tolkunova<sup>c, \*</sup>

<sup>a</sup>Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, 197341 Russia

<sup>b</sup>National Center for Clinical Morphological Diagnostics, St. Petersburg, 192283 Russia

<sup>c</sup>Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia

\*e-mail: entolk62@mail.ru

Progress in the treatment of pancreatic cancer remains very small and according to forecasts, PDAC (pancreatic ductal adenocarcinoma) will become the second leading cause of cancer death in Western countries over the next decade. Traditional cytotoxic chemotherapy is the modern standard of treatment for metastatic PDAC. The results of studies of the epithelial and stromal components showed that the dense fibrous stroma of the tumor plays an active role in the development of PDAC. There is accumulating evidence that the activated stroma contributes to the progression of the tumor. In a short review, we will describe the current understanding of the role of activated tumor stroma cells in the development of PDAC and the current state of research aimed at creating new therapeutic strategies for stromal ablation and stroma remodeling.

**Keywords:** pancreatic ductal adenocarcinoma, activated tumor stroma cells, desmoplasia