

¹ГУ «Институт нейрохирургии НАМН Украины», Киев

²Национальный институт рака, Киев

РОЛЬ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ И ИММУНОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ



Н.И. Лисянский¹, Ю.А. Гриневич²

Адрес:

Лисянский Николай Иванович
04050, Киев, ул. П. Майбороды, 32
ГУ «Институт нейрохирургии НАМН
Украины»
Тел.: (044) 483-81-93
E-mail: nimin.neuro@gmail.com

Ключевые слова: злокачественные опухоли, глиобластомы, гетерогенность опухолей, опухолевые стволовые клетки, CD133⁺ клетки, дифференциальная мимикрия, клеточная инфузия, неоангиогенез.

Согласно современным теориям канцерогенеза генетические, эпигенетические и транскрипционные изменения в здоровых клетках приводят к онкотрансформации их в раковые клетки, для которых свойственны устойчивая пролиферация, инвазия, метастазирование, репликационное бессмертие и ангиогенез, а также устойчивость к подавлению роста и апоптозу, что вместе и определяет характеристику злокачественного роста. Изучение генетического разнообразия и антигенного состава первичных опухолей показало значительную внутриопухолевую гетерогенность различных типов рака, состоящих из смеси генетически различных субклонов клеток первичной гетерогенной опухоли, среди которых только один или, возможно, несколько типов клеток могут дать развитие метастазам, рецидивному росту опухоли или индуцировать опухоль в эксперименте, что послужило основанием для выделения отдельного клона клеток — опухолевых стволовых клеток (ОСК), обладающих свойствами как нормальных, так и опухолевых стволовых клеток. В обзоре детально анализируются основные данные о свойствах ОСК: большая миграционная способность, химио- и радиорезистентность, способность индуцировать рост опухолей в эксперименте, дифференциальная мимикрия, способность к инфузии с клетками хозяина, ангиогенезу и индукции роста сосудов. Отмечается отсутствие единого взгляда на природу ОСК и указывается на попытку разделять их на несколько субпопуляций: опухоль-инициирующие стволовые клетки, опухолевые прогениторные клетки, опухолевые резистентные к химиотерапии стволовые клетки. Каждая из этих субпопуляций способна к самовоспроизведению или превращению друг в друга. Определение специфических онкогенных или эмбриональных белков на ОСК необходимо не только для характеристики и верификации типов ОСК в разных по гистологическим признакам опухолях, но и для прогноза результатов лечения. Получение современных биотехнологических препаратов типа моноклональных антител или онковакцин, направленных против ОСК, позволит усовершенствовать стратегию комбинированного лечения больных со злокачественными новообразованиями.

В последнее десятилетие все больше исследователей склонны к тому, что заболевание раком обусловлено накоплением генетических, эпигенетических и транскрипционных изменений, которые формируют основные свойства раковых клеток, включая устойчивую пролиферацию, инвазию, метастазы, репликационное бессмертие и ангиогенез, а также устойчивость к подавлению роста и апоптозу — и это все вместе определяет характеристику злокачественного роста.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Вопреки первичному возникновению опухоли из единственной мутировавшей клетки, почти все опухоли становятся в разной степени гетерогенными по морфогенетическим признакам, выделяют различные по природе гуморальные факторы, экспрессируют мембранные рецепторы и маркеры, содержат как быстро пролиферирующие, так и дифференцированные клетки

[1–5]. Гетерогенность опухоли приводит к ее прогрессированию, метастазированию, развитию резистентности к терапии и рецидивированию [2, 3].

Впервые гетерогенность опухоли отмечена и описана патологами более ста лет тому. Эта гистологическая гетерогенность сопровождается экспрессией и выделением различных маркеров у разных раковых клеток и рассматривается как внутриопухолевая гетерогенность [4]. Кроме того, существует значительная гетерогенность между опухолями у разных пациентов с данным типом рака. Она известна как интертуморальная гетерогенность [2, 3].

Предлагались различные объяснения характеристик внутриопухолевой и интертуморальной гетерогенности. Они включают геномную карту индивидуальных опухолей и их клональную эволюцию, существование различных популяций раковых клеток с размещением опухолевых стволовых клеток (ОСК) в верхней части иерархии, а также влия-

ние микроокружения опухоли на переход нормальных стволовых клеток (СК) в раковые [2, 3, 5–7]. За последние годы были опубликованы мутационные карты большого количества различных типов рака человека [8, 9]. Изучение генетического разнообразия и антигенного состава первичных опухолей показало значительную внутриопухолевую гетерогенность для некоторых типов рака, что предполагает наличие высокого уровня генетической гетерогенности и разветвленную клональную эволюцию [10–12]. Вместе с тем из смеси генетически различных субклонов клеток первичной гетерогенной опухоли только один или, возможно, несколько типов клеток могут дать развитие метастазам, продолженному или рецидивному росту опухоли, что служит подтверждением их связи со СК.

Хорошо известно, что во всех зрелых тканях СК отвечают за гомеостаз и регенерацию тканей. Во время деления СК дифференцируются, могут обеспечивать рост популяциям клеток, которые после нескольких процедур деления будут, в конечном счете, уходить из ткани. Кроме того, зрелые СК активируются после повреждений, быстро размножаются и вносят решающий вклад в восстановленные ткани. Если же этого не происходит, а негативное воздействие на ткани окружающей среды приводит к активации генов СК, потерявших свою активность с момента окончания эмбриогенеза, инициируется злокачественное перерождение СК при сохранении определенных свойств эмбриональных клеток. Это подтверждается секрецией различными опухолями эмбриональных белков, которые служат маркерами злокачественного роста (раково-эмбриональный антиген — РЭА, α -фетопротеин, трофобластный β -глобулин и др.). Такая схема развития онкогенеза из СК взрослого организма, на наш взгляд, является в известной степени упрощенной и требует дополнительных доказательств.

Не существует уникального маркера специфических для конкретных тканей СК, которые, как правило, определяются своими функциональными свойствами, а именно, способностью к отдаленному самовосстановлению (в противоположность предшественникам, которые могут обычно самовосстанавливаться за более короткие периоды) и способностью дифференцироваться в один или множество потомков клеток. Унипотентные СК дифференцируются только в одного потомка (например сперматогонияльную СК), в то время как мультипотентные СК дифференцируются во множество потомков клеток (например кишечные СК, которые дают рост энтероцитам и бокаловидным клеткам, Paneth и энтероэндокринным клеткам), чем во многом и объясняется природа гетерогенности некоторых видов опухолей.

С учетом того, что все клетки в нормальных тканях генетически идентичны, иерархическая организация тканей регулируется внутренними механизмами, такими как выделение специфических факторов транскрипции, или внешними факторами, такими как клеточное микроокружение, или теми, и другими.

СК И ИНИЦИАЦИЯ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Т. Lapidot и соавторы [13] показали, что при острой лейкемии у людей не все лейкемические клетки способны вызывать лейкемию при трансплантации иммунодефицитным мышам. Продемонстрировано, что лейкемические клетки, содержащие такие же маркеры, как нормальные СК костного мозга ($CD34^+CD38^-$), были намного более эффективными в индукции лейкемии у мышей по сравнению с клетками лейкемии, лишенными этих мембранных маркерных молекул. Поэтому их назвали стволовыми клетками инициации лейкемии (СКИЛ) [14]. Исследователи оценили частоту появления СКИЛ как 1 на 250 000 опухолевых клеток. По аналогии со СК нормальных тканей СКИЛ отличаются своими функциональными свойствами и должны обладать способностью самовосстанавливаться и распространять опухоль в течение длительного периода, а также рекапитулировать различных потомков клеток, обнаруженных в первичных опухолях. Объединив результаты трансплантации и транскрипционное профилирование, исследователи установили, что СКИЛ имеют гены, схожие с генами, выделенными СК костного мозга, и они коррелируют с исходом болезни. Авторы полагают, что СКИЛ регулируются молекулярными механизмами, соответствующими механизмам их нормальных аналогов [15].

Позже много других исследователей показали, что и в солидных опухолях только часть раковых клеток обладает способностью восстанавливать вторичные опухоли после их трансплантации в организм иммунодефицитных мышей. То, что солидная опухоль человека содержит клетки с повышенным потенциалом распространения опухоли, впервые было продемонстрировано при раке молочной железы, когда клетки $CD44^+CD24^{-/low}$ обладали повышенным потенциалом распространения и метастазирования опухоли при трансплантации иммунодефицитным мышам [16–19]. При некоторых типах опухолей мозга, полиморфной глиобластоме (GBM) и нейробластоме обогащение $CD133^+$ клетками сопряжено с распространением опухоли [20].

Колоректальный рак также содержит ОСК, которые несут $CD133^+$ маркер [21, 22]. Как показано по результатам ксенотрансплантаций, многие другие типы солидного рака, вклю-

чая рак поджелудочной железы [23, 24], плоскоклеточные карциномы (SCC) [25], рак прямой кишки [26] и меланомы [27–29], содержат субпопуляции опухолевых клеток с повышенной способностью распространять опухоли. При солидных опухолях вероятность появления клеток распространения опухоли кажется небольшой и варьирует от 1 на 100 000 до 1 на 1000 клеток [30]. В некоторых случаях успех приживления пересаженной иммунодефицитным мышам опухоли требует дополнительных условий и усилий [31, 32]. Все эти сведения указывают на то, что результаты трансплантации должны быть подтверждены и оптимизированы для каждого подтипа опухоли, возможно одновременной трансплантацией с различными компонентами стромы опухоли. Результаты трансплантации мышам ОСК дают информацию о том, что опухолевая клетка может делать в условиях лишь определенного эксперимента.

По-прежнему остается неясным, является ли популяция раковых СК, которая обладает наивысшей активностью в распространении опухоли по результатам трансплантации, той же популяцией, которая вносит вклад в рост, прогрессирование, метастазирование и резистентность к терапии *in vivo* у первичного хозяина. Кроме того, обычно результаты трансплантации не показывают динамику различных популяций раковых клеток и не учитывают клональную кооперацию или конкуренцию, характерные для первичных опухолей.

В последнее время стало известно, что способность к индукции опухоли в эксперименте на мышах обычно не ограничивается лишь одной популяцией ОСК. Имеются другие опухолевые популяции, но уже без маркеров СК, которые могут индуцировать рост опухолей в эксперименте [31–34]. Помимо этого, вероятность появления клеток распространения опухоли изменяется от пациента к пациенту, а специфичность одного маркера в данной группе пациентов может не быть таковой для другой группы. Например, помимо ОСК, экспрессирующих $CD133$ молекулу и полученных из глиобластом, и другие клетки, такие как $Nestin^+CD133^-$ или $Tbr2^+CD133^-$, способны в эксперименте вызывать рост глиобластом [34]. В совокупности эти различия, отмеченные в различных исследованиях, могут обуславливаться иерархической организацией в одних опухолях или ее отсутствием в других; или клеточной иерархией, которая изменяется по мере прогрессирования или метастазирования опухоли и влияет на способность ее клеток вызывать рост новообразования в организме иммунодефицитных мышей.

В некоторых случаях ксенотрансплантаты содержали доминантные

клоны, которые очень редко встречаются в первичных опухолях. При острой лимфобластной лейкемии ксенотрансплантаты разрастались из небольшого количества субклонов, которые существовали у пациента на момент диагностирования и имели более сильное генетическое сходство с образцами рецидива, чем с массой первичной опухоли при ее выявлении. Это дает основание предполагать, что после ксенотрансплантации производится отбор агрессивных и резистентных клонов, которые могут быть ответственны за рецидив заболевания [34, 35]. В то же время эти авторы [34, 35] пришли к выводу, что много еще не выяснено и необходимо получить дополнительные данные о биологической значимости клонального отбора ОСК при ксенотрансплантациях опухолей и их онкогенных признаков.

В литературе имеются и другие мнения. Так, изучение 2 групп мультиформных глиобластом, содержащих много или мало CD133⁺ клеток, показало, что эти два варианта опухоли имели идентичную, характерную для глиобластом гистологическую картину, в то время как клетки глиобластом, в которых было мало CD133⁺ клеток, отличались более высоким пролиферативным и ангиогенным потенциалом по сравнению с опухолями, содержащими много CD133⁺ клеток [36, 37]. Заключение авторов этих исследований, в отличие от многочисленных мнений других ученых, состоит в том, что CD133⁺ клетки глиобластом также способны индуцировать рост опухоли и имеют высокий пролиферативный потенциал, что свидетельствует о все еще недостаточной изученности этой проблемы и необходимости дальнейших поисков фенотипических признаков различных субпопуляций ОСК.

Предлагается также разделять ОСК на несколько субпопуляций, выделяя опухоль-иницирующие СК, опухолевые прогениторные клетки, резистентные к химиотерапии ОСК, каждая из этих субпопуляций способна к самовоспроизведению или превращению друг в друга, что и обуславливает их биологические свойства, хотя фенотипические признаки этих субпопуляций еще до конца не установлены [38].

СОПРЯЖЕННОСТЬ НОРМАЛЬНЫХ СК И ОСК

Применение принципов, используемых при изучении нейрональных стволовых клеток (НСК), к биологии опухолей мозга позволило выявить связь и сходство между нормальными нейрогенезом в мозгу и опухолевым [39–43]. Стало известно, что нормальные нейрогенные СК способны давать генерацию 3 типов клеток: нейронов, астроцитов, олигодендроцитов. Мультиформные глиобластомы содержат также все три

мутационно-измененных типа клеток в ткани опухоли. ОСК подобны по своим свойствам с нейрогенными СК и они играют ключевую роль в рецидивах опухоли, определяют ее устойчивость к химио- и лучевой терапии. Изучение серии разных образцов глиобластомных опухолей в культуре клеток *in vitro* позволило [37, 44] выделить и охарактеризовать такие свойства ОСК:

- ОСК присутствуют в опухоли в малом количестве (0,1–10,0%) и образуют нейросферы, морфологически идентичные нейросферам, образованным нормальными нейрогенными СК; они экспрессируют известные нейромаркеры, например кислый глиальный протеин;
- ОСК способны, с одной стороны, к самовоспроизведению и самоподдерживанию, с другой, к пролиферации и дифференцировке в прогениторы всех трех вариантов нервных опухолевых клеток. Из одной изолированной материнской опухолевой клетки можно *in vitro* получить в процессе дифференцировки различные мультилинейные прогениторы;
- ОСК, выделенные из ткани опухоли человека, при введении иммунодефицитным животным вызывают развитие злокачественного новообразования, гистологически идентичного первичной опухоли донора.

Достаточно спорным остается вопрос о биологических нишах в головном мозгу, в которых располагаются нейрогенные СК и, возможно, ОСК. Так как это в основном паравентрикулярная область мозга и гиппокамп, то логично предположить, что там в основном должны быть локализованы ОСК или отсюда должны исходить и распространяться глиальные опухоли, которые развиваются из мутированных НСК. Имеются данные, что глиомы, прилегающие к боковому желудочку, являются более злокачественными и агрессивными по сравнению с другими локализованными глиомами, что служит косвенным подтверждением развития этих опухолей из ОСК [45]. В то же время известно, что НСК способны мигрировать из обеих ниш в мозгу и накапливаться в очагах травмы или ишемии под влиянием хемокиновых сигналов.

Следовательно, нельзя исключать возможность, что из НСК под действием происшедших мутаций вновь возникшие ОСК будут иметь такую или большую возможность к миграции и инвазии в ткань мозга и индукции новых очагов опухолевого роста [46–48].

Эта способность к инвазии и миграции, о чем указывалось выше, хорошо известна и характерна для злокачественных глиом, клетки которых способны проникать далеко от первичного очага,

даже в противоположное полушарие, что считается одной из причин невозможности радикального удаления опухоли.

Некоторые исследователи придают важное значение микроокружению и физиологическим нишам, где может происходить превращение нормальных СК в опухолевые, более того, сообщают, что, например, терапия антиангиогенными факторами может блокировать выход ОСК из ниш [38, 40]. Теоретически можно предположить, что разрушение или уничтожение в этих нишах самоподдерживающей популяции СК может способствовать профилактике первичного и торможению рецидивного опухолевого роста [40].

Способность к индукции опухоли в ксеногенной модификации (клетки человека вводят иммунодефицитным мышам) и экспрессия на поверхности этих клеток CD133⁺ молекул как их фенотипического признака явились одними из основных определений ОСК, что послужило важным аргументом в пользу создания новой теории онкогенеза — теории СК не только кроветворной системы, но и солидных опухолей [30, 41, 44, 51, 52].

Установлено, что экспрессируемая на ОСК молекула CD133 представляет собой доменный трансмембранный гликопротеин, получивший название променин-1. Он впервые был определен на гематопозитических стволовых CD34⁺ клетках, выделенных из фетальной печени [53, 54], а затем эмбрионального и взрослого мозга, пуповинной крови и периферической крови. Молекулярная масса променина-1 человека составляет примерно 220 кДа, он гомологичен на 60% с мышинным променином. К нему найдены моноклональные антитела, получившее название анти-CD133 антитела. Детально изучена структура, аминокислотный состав, установлен ген, который локализован в 4-й хромосоме [53]. Функциональное назначение этого мембранного белка еще до конца не изучено, но при дифференцировке СК он исчезает из мембраны клеток. Наряду с гемопоэтическими клетками этот белок экспрессируется на клетках эмбрионального мозга, СК печени, эндотелиальных базальных клетках предстательной железы, на различных линиях канцерогенных клеток, что послужило основанием считать его маркером стволовых как нормальных, так и опухолевых клеток [55–60]. CD133 молекула (променин-1) как маркер различных стволовых и прогениторных клеток стала широко использоваться в исследовательской деятельности, в том числе при изучении ОСК глиом [49, 50, 61–63].

Вместе с тем до сих пор еще до конца не выяснена как природа ОСК глиом, так и их происхождение — возникли ли эти клетки из нормальных стволовых

или прогениторных нервных клеток в силу мутации последних, либо же путем дедифференцировки зрелых глиальных клеток под действием мутаций и канцерогенов, или обе гипотезы происхождения ОСК имеют место [64–66].

Многими авторами показано, что стволовые, как мезенхимальные, так и нервные, клетки имеют тропизм к опухолям, они способны мигрировать даже из контралатеральной гемисферы в опухоль. Предполагают, что тропизм к опухоли может быть связан с определенными цитокиновыми рецепторными комбинациями [67–70]. Установлена важность хемоаттрактантов семейства SCF/K-kit, HGF/S-Met, MCP-1/CCR2, экспрессируемых на НСК и определяющих направленную миграцию СК в опухоль [39, 59, 71–73]. Миграция НСК зависит также и от S-Met, и фосфоинозитид-3-киназного сигнального пути у СК. Блокада этого гена или полное его выключение (нокаут) приводит к снижению пролиферации ОСК, остановке деления клеток в фазе G0/G1 с последующим развитием апоптоза. В других же опухолевых глиальных клетках S-133 (не стволовых) блокада гена *c-MYC* не влияет на их пролиферативный потенциал. Снижение уровня *c-Myc* белка приводит к потере клетками CD133⁺ способности к образованию нейросфер в культуре и индуцированию роста опухоли человека у иммунодефицитных мышей при введении им ОСК. Это позволило авторам утверждать, что *c-Myc* онкопротеин — один из регуляторов пролиферации и выживания ОСК [73, 74]. Не исключено, что ОСК имеют и ряд других, не характерных для НСК особенностей, которые определяют онкогенность, резистентность их к гипоксии и радиации и т.д.

ОСК И МИКРООКРУЖЕНИЕ

Помимо известных и описанных ранее свойств ОСК глиом, таких как высокая миграционная способность, химио- и радиорезистентность, способность индуцировать рост глиом в эксперименте, сейчас дополнительно установлено, что ОСК в принципе активно взаимодействуют с микроокружением, со здоровыми нервными клетками паренхимы мозга и используют их в онкогенезе. Так, в большой экспериментальной работе Y. Dong и соавторы (2012) [72] изучали свойства ОСК глиобластом человека, которые трансплантировали в мозг генетически модифицированных бестимусных мышей с ослабленной иммунной системой, так называемых nude мышей. У этих животных отсутствуют иммунные реакции отторжения алло- и ксенотрансплантатов. Так, при стереотаксическом введении $1 \cdot 10^4$ ОСК глиомы человека, экспрессирующих CD133 молекулу,

в каудальное ядро мозга мыши на глубину 3,4 мм уже через 5–6 дней эти клетки определялись в различных отделах мозга, включая субвентрикулярную зону, арахноидальное пространство и мягкую мозговую оболочку. На 10–19-й день опухолевые клетки выявляли уже повсеместно в мозгу, даже в контралатеральной гемисфере, что свидетельствует о большой миграционной способности CD133⁺ ОСК человека в мозгу мыши, даже в ксеногенной системе.

Вторым важным установленным фактом явилось то, что где бы не локализовались после трансплантации в мозг ОСК, они размножались и вызывали развитие опухолей, гистологический тип которых зависел от места локализации ОСК. Так, если эта опухоль развивалась по месту введения в каудальном ядре или в прилегающей паренхиме мозга, то она напоминала структуру мультиформной глиобластомы человека. Если же опухоль развивалась в субэпидермальном слое, то выглядела как эпендимоастроцитом, если же опухоль локализовалась в хориоидном сплетении, то гистологически была похожа на карциному хориоидального сплетения. Этот полиморфизм опухолей, индуцированных ОСК глиобластомы человека, был назван «дифференциальной мимикрией» ОСК [75], обусловленной, с одной стороны, плюрипотентными свойствами ОСК, а с другой — клеточным микроокружением этих ОСК, которое определяет гистологическую картину вновь возникающей опухоли — от глиобластом до эпендимом и карцином. Каким образом микроокружение воздействует на мигрирующую ОСК, пока что неясно. Какие физиологические сигналы поступают от эпендимарных клеток или же клеток хориоидного сплетения, и что трансформирует глиобластому в эпендимому или карциному, еще неизвестно. И можно ли посредством этих сигналов влиять на степень злокачественности глиобластомы сегодня, тоже остается невыясненным.

Установлен пока что феномен, что ОСК глиобластом человека способны к «дифференциальной мимикрии» в головном мозгу в зависимости от локализации этих клеток. Влияет ли место нахождения в мозгу ОСК на их миграционный потенциал, способность индуцировать новые очаги роста опухоли, предстоит выяснить в будущем. Важно то, что микроокружение ОСК может играть определенную роль в направленной онкодифференцировке ОСК в процессе индукции ими роста опухоли.

Исследуя методом конфокальной микроскопии гистологическую картину отдельных опухолевых очагов в мозгу, сформировавшихся после введения ОСК глиобластомы, Y. Dong и соавторы [72] установили, что по периферии опухо-

левого узла локализованы необычные гибридные клетки, которые содержали как антигены человека (HLA антигены), так и антигены мыши. По мнению авторов, это свидетельствует о слиянии ОСК человека с ксеногенными клетками мозга мыши, так называемой клеточной инфузии. Особенно много таких клеток в инвазивной пограничной зоне опухолевого очага. Такие клетки содержали до 4 и более ядрышек, что, по мнению ученых, указывает на формирование нового гибридного типа клеток, вероятно с более выраженными злокачественными свойствами, большей инвазивной и миграционной способностью. Способность к слиянию опухолевых клеток со здоровыми хорошо известна в общей онкологии и наблюдается при различных типах рака [75–79].

Считается, что слияние опухолевых клеток со здоровыми является результатом анеуплоидии, которая сопровождается изменением количества хромосом в клетке, и это приводит к передаче опухолевых свойств от опухолевых клеток к здоровым и таким образом — к вовлечению в опухолевый процесс других не опухолевых клеток [80]. Установление феномена «слияния» ОСК глиом человека с нормальными клетками мозга мыши в определенной степени объясняет высокую скорость роста опухолевых узлов за счет вовлечения в процесс малигнизации и пролиферации здоровых клеток хозяина. Кроме того, это косвенно объясняет влияние места локализации ОСК на тип опухоли (почему развивается в одном случае эпендимом, а в другом — карцинома из типичных глиобластомных клеток), так как после слияния ОСК со здоровыми химерные гибридные новые клетки сохраняют частично свои гистологические свойства, что приводит к развитию различных типов опухолей. Но это пока что предположение, которое требует экспериментального доказательства.

Существование феномена слияния ОСК со здоровыми клетками мозга свидетельствует о том, что ОСК глиом не изолированы, не запрограммированы на автономное независимое существование и самоподдержание как клетки, дающие рост только глиобластомам, они способны использовать в своих целях микроокружение здоровых клеток мозга. Какие клетки головного мозга (глиальные, соединительнотканые или эндотелиальные) используются ОСК для слияния, пока что неизвестно, и контролируем ли этот процесс со стороны других систем организма, также остается загадкой. Y. Dong и соавторы [72] склонны считать эту способность ОСК к слиянию со здоровыми клетками признаком высокой злокачественности ОСК, а возникающие гибридные клетки, по их мнению, должны иметь более

злокачественные признаки, в частности большую способность к инфильтративному росту.

ОСК И ОНКОАНГИОГЕНЕЗ

Наряду с вышеотмеченными новыми свойствами, такими как дифференцированная мимикрия и инфузия (слияние) со здоровыми клетками, ОСК глиобластом способны индуцировать рост сосудов как внутри опухолевого очага, так и по периферии при инфильтративном росте. ОСК создают новую сосудистую сеть с малым количеством эндотелиальных клеток в микрососудах опухоли и окружающей ее ткани головного мозга мыши. Y. Dong и соавторам [72] удалось проследить зависимость расположения ОСК в малых и больших микрососудах опухолей. Так, малые сосуды образуются из одного слоя ОСК со значительным содержанием в этих так называемых сосудах эритроцитов, тогда как сосуды с большим диаметром окружены плотно несколькими слоями ОСК. Иногда в этих сосудах содержатся клетки, имеющие как антигены человека, так и мыши, то есть это гибридные клетки, образованные после слияния. Внутренняя мембрана сосудов не плотная и проницаема для эритроцитов и даже искусственно введенных микрочастиц, которые гистологически определяются как внутри сосуда, так и вне сосудистой мембраны в окружении ОСК.

Таким образом, ОСК свойственна также и ангиогенная мимикрия, то есть способность самостоятельно строить сосуды для своего энергообеспечения, используя для этого гибридные клетки, а также они стимулируют ангиогенез эндотелиальных клеток нормальной ткани мозга, что делает опухолевый очаг независимым от ангиогенных факторов организма и особенностей кровообращения в мозгу.

Приведенные выше данные свидетельствуют, что ОСК, наряду с такими известными свойствами, как высокая миграционная способность и химио- радиорезистентность, обладают способностью к дифференциальной мимикрии, слиянию с клетками хозяина, ангиогенной трансформации, что существенно расширяет наши представления о биологии ОСК, и это в известной степени объясняет причины развития быстрого рецидива и короткой послеоперационной ремиссии у пациентов с глиобластомами и, вероятно, с некоторыми другими солидными опухолями, такими как рак поджелудочной железы, легкого, яичника и др.

Возможность слияния ОСК со здоровыми клетками мозга, ангиогенный потенциал ОСК в новых очагах опухолевого роста логично вкладываются в целом в представление об особом статусе ОСК и их принципиальных от-

личиях как от других опухолевых клеток, присутствующих в опухоли, так и от нормальных СК взрослого организма.

В тоже время факт дифференциальной мимикрии, то есть способности трансформироваться в другие гистологические типы опухоли — карциному или эпендимому при миграции ОСК в субэпендимарную зону мозга или в хориоидное сплетение, нуждается в клинико-лабораторных подтверждениях. Сегодня сложно представить, что такие разные опухоли, как карцинома и эпендимома, могут иметь общего предшественника в виде ОСК глиобластом. Показано, что в глиомах, помимо CD133⁺ клеток, определяются гемопоэтические и мезенхимальные СК, которые тоже могут участвовать в процессах инфузии и мимикрии [81]. Роль этих пришлых нормальных СК в развитии опухолей остается еще не изученной.

Полученные в эксперименте данные уже подтверждаются результатами клинических исследований. Так, в частности, иммуногистохимическое изучение экспрессии CD133⁺ клеток и белка нестина в 65 глиомах разной степени анаплазии показало, что эти два маркера СК экспрессируются не только на опухолевых клетках, но и на клетках капилляров опухоли. Экспрессию эндотелием капилляров маркеров CD133 и нестина выявляли во всех исследованных опухолях, причем в более злокачественных образованиях отмечено большее количество таких клеток, чем в менее злокачественных [83]. Количество эндотелиальных клеток, экспрессирующих эти маркеры, коррелировало с количеством опухолевых клеток, содержащих эти маркеры — чем больше таких клеток в опухоли, тем больше эндотелиальных клеток капилляров имеют эти маркеры.

На основании проведенных исследований авторы делают заключение, что капилляры в глиомах могут образовываться из CD133⁺ СК вследствие их трансдифференцировки, а вокруг микрососудов опухоли находятся ОСК и их количество зависит от степени анаплазии — чем выше степень анаплазии, тем больше и плотнее микрососуды опухоли окружены CD133⁺ клетками [83].

Следовательно, можно суммировать представленные выше данные о свойствах ОСК: большая миграционная способность, химио-, радиорезистентность, способность индуцировать рост глиобластом в эксперименте, дифференциальная мимикрия, способность к инфузии с клетками хозяина и к индукции роста сосудов.

Безусловно, каждое из этих новых свойств ОСК является сегодня объектом углубленного изучения как с целью раскрытия и более глубокого понимания механизмов его проявления, так и получения возможности направленного (тар-

гетного) воздействия на него, а следовательно, в конечном итоге — торможения роста опухолей.

ОСК И ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА

Установлено, что ОСК глиом обладают не только отмеченными выше биологическими свойствами, они также способны регулировать иммунные реакции организма. Так, при изучении нейрофер, выделенных из 8 глиобластом и атипических астроцитов, установлена гиперэкспрессия иммуносупрессивных генов интерлейкина-10 и трансформирующего фактора роста β -2. Посредством этих иммуносупрессивных цитокинов ОСК ингибируют противоопухолевые иммунные реакции в опухоли, а также угнетают развитие цитотоксических и других иммунных реакций, направленных против ОСК [9]. Известно, что способность тормозить развитие иммунных реакций характерна не только ОСК, но и многим другим нормальным СК, например мезенхимальным [82]. Постулируется, что иммуносупрессивный потенциал стволовых как нормальных, так и опухолевых клеток реализуется не только за счет продукции супрессорных цитокинов, но и путем экспрессии на этих клетках ингибиторных рецепторов и молекул, способных угнетать цитотоксическую активность естественных киллеров и подавлять развитие специфического противоопухолевого иммунного ответа.

Таким образом, экспериментальные исследования подтверждаются клиническими наблюдениями, хотя четкого и прямого ответа на вопрос, являются ли эти эндотелиальные клетки прямыми производными из ОСК или же они образованы в результате слияния ОСК с эндотелиальными клетками растущих сосудов, как это показано в эксперименте, нет. Вторым важным фактом, установленным в этих работах, можно считать то, что на определенных этапах роста опухолевого очага сами ОСК способны образовывать сосудоподобные структуры, по которым циркулирует кровь, через которые в ткань поступают эритроциты и питательные вещества. По-видимому, это обусловлено тем, что темпы роста полноценных сосудов отстают от роста опухолевого узла и ОСК «вынуждены» создавать эти примитивные капилляры для независимого самосохранения.

ОСК И ТАРГЕТНАЯ ТЕРАПИЯ

Теория о существовании ОСК имеет не только теоретическое значение для понимания патогенеза злокачественного роста вообще и глиом мозга в частности, она дает возможность создать новые подходы, новую стратегию разработки патогенетически адекватной терапии опухолей. В плане направленного воздействия на ОСК ведутся весьма глубо-

кие и обширные исследования, которые иногда дают неожиданные результаты. Так, например, общепризнанным методом воздействия на CD133⁺ ОСК является применение специфических к этому белку антител или препаратов на основе антител, но появились указания на то, что молекула промеллина А (CD133) содержит как минимум две изоформы (AC-133-1, AC-133-2), на которые получены моноклональные антитела. Как оказалось, моноклональные антитела против AC-133-2 изоформы CD133 молекулы обладали стимулирующим действием на опухолевые клетки *in vitro*, усиливали пролиферацию клеток опухолей, которые также содержали CD133⁺ клетки [84]. Таким образом, кроме ингибиции, не исключена возможность столкнуться с признаками стимуляции роста опухоли с помощью антител против CD133 молекулы СК.

Новая терапевтическая стратегия должна строиться на учете различий между нормальными СК и ОСК, что, в конечном итоге, должно приводить к гибели ОСК, торможению роста опухоли и сохранению нормальных СК организма, необходимым для восстановления нарушенных систем. Эти воздействия могут быть направлены на различные процессы, связанные со свойствами ОСК, и они, эти новые терапевтические подходы, по мнению С. Hadjipanayis, E. Van Meir [82], сводятся уже сегодня как минимум к 6 терапевтическим стратегиям: стимуляции дифференцировки ОСК, разрушению физиологических ниш, подавлению миграционной способности и химиорезистентности ОСК, нормализации иммунной системы и персонализированной иммунотерапии против ОСК.

Первое направление в этой стратегии связано с дифференцировкой ОСК. Так, известно, BMP-протеины (bone morphogenetic proteins), относящиеся к семейству цитокинов, регулируют дифференциацию нормальных СК [85, 86], также являются промоторами пролиферации и дифференцировки нейральных клеток при глиомах. Например, инкубация BMP-4-протеина с CD133⁺ ОСК приводит *in vitro* как к уменьшению количества клеток, так и торможению их пролиферации. Введение этого белка животным с вызванными введением CD133⁺ клеток опухолями приводило к торможению скорости роста и размера опухоли и снижению способности к инфильтративному росту. Обработанные *in vitro* BMP-4-протеином CD133⁺ клетки при введении в мозг иммунодефицитным животным вызывают рост опухолей в нем меньшего размера, которые состояли из более зрелых и менее злокачественных клеток [87, 88].

Большие надежды возлагаются на нанотехнологии, которые способны доставлять токсические агенты в определенные клетки или создавать

локальную гипертермию в опухоли [89, 90]. Вторым перспективным способом воздействия на ОСК может стать разрушение сосудистой сети физиологических ниш с помощью таргетной иммунотерапии [89]. Применение анти-VEGF антител (vascular endothelial growth factor — фактор роста эндотелия сосудов) bevacizumab или ингибитора тирозинкиназы cediranib было эффективно у больных с глиобластомами [90]. Антитела к VEGF практически не влияли на сами ОСК, а лишь на способность эндотелиальных клеток капилляров воспринимать секретлируемый ОСК фактор роста, и вследствие этого тормозилась миграция эндотелиальных клеток и образование новых капилляров [91].

Перспективным может быть использование стромальных клеток, представленных достаточно широко в опухолевой ткани. Механизмы взаимодействия ОСК и стромальных клеток не изучены в должной мере, хотя известно, что стромальные клетки могут вырабатывать факторы роста и дифференцировки, которые могут как тормозить, так и поддерживать опухолевую прогрессию.

Предположение о наличии в опухоли различных субпопуляций ОСК, в частности клеток, инициирующих рост, клеток, ответственных за миграцию, и более дифференцированных опухолевых клеток, указывает на возможность воздействия на эти клеточные субпопуляции и использовать их как мишени для таргетной иммунотерапии [85–90]. Выявление ОСК с инициирующими свойствами, их идентификация с помощью магнитно-резонансной томографии или позитронной эмиссионной томографии даст более полную картину об их локализации, миграции и эффективности такой терапии. В будущем могут быть разработаны и другие методы воздействия на ОСК.

Необходимо отметить, что терапия, направленная против ОСК, является новой, с инновационной перспективной стратегией в онкологии, так как позволяет отойти от старых, устоявшихся представлений о природе и патогенезе канцерогенеза с общепринятыми стандартами лечения, которые все еще не позволяют перешагнуть рубеж пятилетней выживаемости хотя бы 50% больным.

То, что популяцию ОСК можно выделить из ткани опухоли и что она воспроизводит первичную опухоль у иммунодефицитных животных, может служить прекрасной лабораторной моделью как для широкого поиска и изучения эффективности новых методов лечения, так и для дальнейшего исследования свойств опухолевых клеток [85, 89]. Это может оказаться и специфическая активная иммунотерапия с использованием аутологичных вакцин, основанных на дендритных

клетках, нагруженных антигеном, выделенным из ОСК [85].

При этом нужно учитывать, что в разных опухолях могут быть свои ОСК, которые экспрессируют и другие маркеры, а не только CD133⁺ молекулу, причем часто эти новые маркеры не выделялись ранее в исходных клетках опухоли. Например, в нормальном кишечнике Dclk1 метит дифференцированные клетки, а кишечные клетки с метением Dclk1 CREER утрачиваются в течение 2 нед. И наоборот, в полипах и аденомах Dclk1 метит популяцию ОСК, которые быстро распространяются и стимулируют рост опухоли [92]. Абляция потомков клеток Dclk1⁺ при помощи токсина дифтерии вызывает регрессию опухоли без повреждений нормальной ткани кишки, и это свидетельствует о том, что маркер Dclk1 является специфичным для ОСК и средством специфического таргетирования ОСК без нарушения функции нормальных СК [95]. Аналогично, Sox2 выделяется в различных типах нормальных СК [95]. Sox2 не присутствует в нормальном эпидермисе кожи, но появляется при ранних стадиях опухоли кожи и выделяется в гетерогенном виде при мышинных и человеческих плоскоклеточных карциномах [96]. Sox2 метит субпопуляцию опухолевых клеток CD34⁺, которые представляют высшую степень приживления опухоли после их трансплантации иммунодефицитным мышам. Абляция потомков клеток, которые экспрессируют Sox2 при опухолях кожи мышей, быстро ведет к регрессии злокачественного образования. Это относится к доброкачественным и злокачественным плоскоклеточным опухолям кожи и доказывает существенную роль Sox2 ОСК в поддержании опухоли внутри их естественного микроокружения, а также то, что таргетирование малой субпопуляции опухолевых клеток является достаточным для уничтожения появившихся опухолей [96]. Все это затрудняет биотехнологические подходы к разработке универсальных методов воздействия на ОСК. Вероятного единого универсального препарата против ОСК, пригодного для применения при всех видах опухолей человека, не реально получить. Исследования в области таргетной терапии ОСК сегодня ведутся по многим направлениям, в ближайшее время, вероятно, будет получен ответ на возможность клинического применения терапии против ОСК при различных по природе опухолях человека.

Выводы

Открытия последних лет в области биологии опухолевого роста, а именно в аспекте ОСК, расширяют, дополняют и нередко переворачивают устоявшиеся представления об онкогенезе. В итоге, формируется новый «образ» канцеро-

генеза как биологического феномена, берущего свое начало от природы СК, присутствующих в организме на всех этапах жизни человека.

Сегодня можно выделить основные известные свойства ОСК: большая миграционная способность, химио- и радиорезистентность, способность индуцировать рост опухолей в эксперименте, дифференциальная мимикрия, способность к инфузии с клетками хозяина и к индукции роста внутриопухолевых сосудов, а также к торможению некоторых противоопухолевых реакций иммунной системы.

Определение профиля экспрессии на ОСК онкогенных или эмбриональных белков необходимо не только для характеристики и верификации ОСК разных по гистологической картине опухолей, но и для прогноза результатов лечения, а также получения современных биотехнологических препаратов типа моноклональных антител или онковакцин на основе дендритных клеток против ОСК, пригодных для клинического применения в схемах основных методов лечения пациентов онкологического профиля.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nassar D., Blanpain C. (2016) Cancer stem cells: basic concepts and therapeutic implications. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, 11: 47–73.
2. Almdroff V., Marusyk A., Polyak K. (2013) Cellular heterogeneity and molecular evolution in cancer. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, 8: 277–302.
3. De Sousa E.M.F., Vermeulen L., Fessler E., Medema J.P. (2013) Cancer heterogeneity — a multifaceted view. *EMBO Rep.*, 14: 686–695.
4. Heppner G.H. (1984) Tumor heterogeneity. *Cancer Res.*, 44: 2259–2655.
5. Kreso A., Dick J.E. (2014) Evolution of the cancer stem cell model. *Cell Stem Cell*, 14: 275–291.
6. Yates L.R., Campbell P.J. (2012) Evolution of the cancer genome. *Nat. Rev. Genet.*, 13: 795–806.
7. Meacham C.E., Morrison S.J. (2013) Tumor heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature*, 501: 328–337.
8. Pleasance E.D., Cheetham R.K., Stephens P.J. et al. (2010) A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome. *Nature*, 463: 191–196.
9. Kandath C., McLellan M.D., Vandin F. et al. (2013) Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*, 502: 333–339.
10. Gerlinger M., Rowan A.J., Horswell S. et al. (2012) Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N. Engl. J. Med.*, 366: 883–892.
11. Gerlinger M., Horswell S., Larkin J. et al. (2014) Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing. *Nat. Genet.*, 46: 225–233.
12. de Bruin E.C., McGranahan N., Mitter R. et al. (2014) Spatial and temporal diversity in genomic instability processes defines lung cancer evolution. *Science*, 346: 251–256.
13. Lapidot T., Sirard C., Vormoor J. et al. (1994) A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 367: 645–648.
14. Bonnet D., Dick J.E. (1997) Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.*, 3: 730–737.
15. Eppert K., Takenaka K., Lechman E.R. et al. (2011) Stem cell gene expression programs influence clinical outcome in human leukemia. *Nat. Med.*, 17: 1086–1093.
16. Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A., Morrison S.J., Clarke M.F. (2003) Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *PNAS*, 100: 3983–3988.
17. Ginestier C., Hur M.H., Charafe-Jauffret E. et al. (2007) ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Stem Cell*, 1: 555–567.
18. Charafe-Jauffret E., Ginestier C., Iovino F. et al. (2010) Aldehyde dehydrogenase 1-positive cancer stem

cells mediate metastasis and poor clinical outcome in inflammatory breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 16: 45–55.

19. Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D. et al. (2004) Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*, 429: 396–401.
20. O'Brien C.A., Pollett A., Gallinger S., Dick J.E. (2007) A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*, 445: 106–110.
21. Ricci-Vitiani L., Lombardi D.G., Pilozzi E. et al. (2007) Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature*, 445: 111–115.
22. Prince M.E., Sivanandan R., Kaczorowski A. et al. (2007) Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *PNAS*, 104: 973–978.
23. Vermeulen L., Todaro M., de Sousa Mello F. et al. (2008) Single-cell cloning of colon cancer stem cells reveals a multi-lineage differentiation capacity. *PNAS*, 105: 13427–13432.
24. Schatton T., Murphy G.F., Frank N.Y. et al. (2008) Identification of cells initiating human melanomas. *Nature*, 451: 345–349.
25. Boiko A.D., Razorenova O.V., van de Rijn M. et al. (2010) Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271. *Nature*, 466: 133–137.
26. Civenti G., Walter A., Kobert N. et al. (2011) Human CD271-positive melanoma stem cells associated with metastasis establish tumor heterogeneity and long-term growth. *Cancer Res.*, 71: 3098–3109.
27. Ishizawa K., Karisch R., Wang Q. et al. (2010) Tumor-initiating cells are rare in many human tumors. *Cell Stem Cell*, 7: 279–282.
28. Quintana E., Shackleton M., Sabel M.S. et al. (2008) Efficient tumour formation by single human melanoma cells. *Nature*, 456: 593–596.
29. le Viseur C., Hofelder M., Bomken S. et al. (2008) In childhood acute lymphoblastic leukemia, blasts at different stages of immunophenotypic maturation have stem cell properties. *Cancer Cell*, 14: 47–58.
30. Chen R., Nishimura M.C., Bumbaca S.M. et al. (2010) A hierarchy of self-renewing tumor-initiating cell types in glioblastoma. *Cancer Cell*, 17: 362–375.
31. Clappier E., Gerby B., Sigaux F. et al. (2011) Clonal selection in xenografted human T cell acute lymphoblastic leukemia recapitulates gain of malignancy at relapse. *J. Exp. Med.*, 208: 653–661.
32. Nowak D., Liem N.L., Mossner M. et al. (2015) Variegated clonality and rapid emergence of new molecular lesions in xenografts of acute lymphoblastic leukemia are associated with drug resistance. *Exp. Hematol.*, 43: 32–43.
33. Ieta K., Tanaka F., Haraguchi N. et al. (2008) Biological and genetic characteristics of tumor-initiating cells in colon cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 15: 638–648.
34. Lesniak M.S., Brem H., Targ Stiles C.D., Rowitch D.H. (2008) Glioma stem cells: a midterm exam. *Neuron*, 58(6): 832–846.
35. Hadjipanayis G.G., Van Meir E.G. (2009) Tumor initiating cells in malignant gliomas: biology and implications for c-Myc is required for maintenance of glioma cancer stem cells. *J. Mol. Med.*, 87(4): 363–374.
36. Heese O., Disko A., Zirkel D. et al. (2005) Neural stem cell migration toward gliomas in vitro. *Neur. Oncol.*, 7(4): 476–484.
37. Kosztowski T., Zaidi H., Quiñones-Hinojosa A. (2009) Applications of neural and mesenchymal stem cells in the treatment of Gliomas. *Exp. Rev. Anticancer Ther.*, 9(5): 597–612.
38. Peichev M., Naiyer A.J., Pereira D. et al. (2000) Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*, 95: 952–958.
39. Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F. et al. (2001) Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414: 105–111.
40. Serfozo P., Schlarman M.S., Pierret C. et al. (2006) Selective migration of neuralized embryonic stem cells to stem cell factor and media conditioned by glioma cell lines. *Cancer Cell Int.*, 6: 234–268.
41. Zhang M., Song T., Yang L. et al. (2008) Nestin and CD133: valuable stem cell-specific markers for determining clinical outcome of glioma patients. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 24(27): 85.
42. Chalchana K.L., McGirt M.J., Frazier J. et al. (2008) Relationship of glioblastoma multiforme to the lateral ventricles predicts survival following tumor resection. *J. Neurooncol.*, 89(2): 219–224.
43. Uchida N., Buck D.W., He D. et al. (2000) Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 14720–14725.
44. Xu F., Zhu J.H. (2007) Stem cells tropism for malignant gliomas. *Neurosci. Bull.*, 23(6): 363–369.
45. Yin A.H., Miraglia S., Zanjanli E.D., Almeida-Porada G. et al. (1997) AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*, 90: 5002–5012.

46. Galli R., Binda E., Orfanelli U. et al. (2004.) Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma. *Cancer Res.*, 64: 7011–7021.
47. Griguer C.E., Oliva C.R., Gobin E. et al. (2008) CD133 is a marker of bioenergetic stress in human glioma. *PLoS One*, 3(11): 3655–3665.
48. Ricci-Vitiani L., Lombardi D. G., Pilozzi E. et al. (2007) Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature*, 445: 111–115.
49. Liang Z., Wu T., Lou H. et al. (2004) Inhibition of breast cancer metastasis by selective synthetic peptide against CXCR4. *Cancer Res.*, 64(12): 4302–4308.
50. Biddingmaier S., Xiaodong Zhu, Bin Liu (2008) The utility and limitations of glycosylated human CD133 epitopes in defining cancer stem cells. *J. Mol. Med.*, 86(9): 1025–1032.
51. Yuan X., Curtin J., Xiong Y.Y. et al. (2004) Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme. *Oncogene*, 23: 9392–9400.
52. Corbett D., Roper K., Hellwig A. et al. (2000) The uhman AC133 hematopoietic stem cell antigen is also expressed in epithelial cells and targeted to plasma membrane protrusions. *J. Biol. Chem.*, 275: 5512–5520.
53. Guo W., Lasky J.L., Wu H. (2006) Cancer stem cells. *Pediatr. Res.*, 59: 59–64.
54. Mizrak D., Brittan M., Allison M. (2008) CD133: molecule of the moment. *J. Pathol.*, 23: 214–223.
55. Ries C., Egea V., Karow M. et al. (2007) MMP-2, MT1-MMP and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines. *Blood*, 109(9): 4055–4063.
56. Xu F., Zhu J.H. (2007) Stem cells tropism for malignant gliomas. *Neurosci. Bull.*, 23(6): 363–369.
57. Zhou Y., Larsen P.H., Hao C., Yong V.W. (2002) CXCR4 is a major chemokine receptor on glioma cells and mediates their survival. *J. Biol. Chem.*, 277 (51): 49481–49487.
58. Eramo A., Lotti F., Sette G. et al. (2008) Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ.*, 15: 504–514.
59. Nandi S., Ulasov I.V., Tyler M.A., Sugihara A.Q. et al. (2008) Low-dose radiation enhances survivin-mediated virotherapy against malignant glioma stem cells. *Cancer Res.*, 68(14): 5778–5784.
60. Sun L., Lee J., Fine H.A. (2004) Neuronally expressed stem cell factor induces neural stem cell migration to areas of brain injury. *J. Clin. Invest.*, 113(9): 1364–1374.
61. Boockvar J.A., Kapitonov D., Kapoor G. et al. (2003) Constitutive EGFR signaling confers a motile phenotype to neural stem cells. *Mol. Cell. Neurosci.*, 24(4): 1116–1130.
62. Dietrich J., Imtola J., Kesari S. (2008) Mechanisms of disease: the role of stem cells in the biology and treatment of gliomas. *Nat. Clin. Pract. Oncol.*, 5(7): 393–404.
63. Suetsugu A., Nagaki M., Aoki H., Motohashi T. et al. (2006) Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 351: 820–824.
64. Suetsugu A., Nagaki M., Aoki H., Motohashi T. et al. (2006) Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 351: 820–824.
65. Hakamura K., Ito Y., Kawano Y. et al. (2004) Antitumor effect of genetically engineered mesenchymal stem cells in a rat glioma model. *Gene Ther.*, 11(14): 1155–1164.
66. Zhu L.L., Wu L.Y., Yew D.T., Fan M. (2005) Effects of hypoxia on the proliferation and differentiation of NSCs. *Mol Neurobiol.*, 31: 231–242.
67. Ziu M., Schmidt N.O., Cargioli T.G. et al. (2006) Glioma-produced extracellular matrix influences brain tumor tropism of human neural stem cells. *J. Neurooncol.*, 79(2): 125–133.
68. Shaw E., Arusell R., Scheithauer B. et al. (2002) Prospective randomized trial of low-versus high-dose radiation therapy in adults with supratentorial low-grade glioma: Initial report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *J. Clin. Oncol.*, 20(9): 2267–2276.
69. Wysoczynski M., Reza R., Ratajczak J. et al. (2005) Incorporation of CXCR4 into membrane lipid rafts primes homing-related responses of hematopoietic stem/progenitor cells to an SDF-1 gradient. *Blood*, 105(1): 40–48.
70. Xie Z., Chin L.S. (2008) Molecular and cell biology of brain tumor stem cells: lessons from neural progenitor/stem cells. *Neurosurg. Focus*, 24(3–4): 123–129.
71. Wen P.Y., Kesari S. (2008) Malignant gliomas in adults. *N. Engl. J. Med.*, 359(5): 492–507.
72. Dong Y., Zhang G., Huang G. et al. (2010) Glioma stem cells involved in tumor tissue remodeling in a xenograft model. *J. Neurosurgery*, 113: 249–260.
73. Chakraborty A.K., Sodi S., Raskovsky M. et al. (2000) A spontaneous murine melanoma lung metastasis comprised of host x tumor hybrids. *Cancer Res.*, 60: 2512–2519.

74. Parris C.E. (2006) The cell clone ecology hypothesis and the cell fusion model of cancer progression and metastasis history and experimental support. *Med. Hypotheses*, 66: 76–83.
 75. Pawelek J.M., ChaKraborty A.K. (2008) Fusion tumor Cell with bone marrow — derived cells: a unifying explanation for metastasis. *Nat. Rev. Cancer*, 8: 377–386.
 76. Recht L., Jang T., Savarese T., Litovsky N.S. (2003) Neural stem cells and neuro-oncology: quo vadis? *J. Cell Biochem.*, 88: 11–19.
 77. Duell D., Lazebnik Y. (2003) Cell fusion: a hidden enemy? *Cancer Cell.*, 3: 445–448.
 78. Лісяний М.І., Бельська Л.М., Потапова А.Г., Лісяний О.М. (2016) Визначення вмісту у пухлинах головного мозку клітин, що мають молекулярні маркери стовбурових клітин. *Клин. онкол.*, 4: 68–72.
 79. Лісяний Н.І., Лісяний А.Н. (2010) Стволові опухолеві клітки злоякісних гліальних опухолей мозгу. *Онкологія*, 12(3): 229–233.
 80. Li M., Nin C. (2010) Correlative study of distribution of brain tumor stem cell with micro-vascular system. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.*, 90: 394–309.

81. Wang J., Li F., Zhang G. et al. (2010) To novel monoclonal antibodies against Human CD-133-2: distinct epitopes and agonist activity to enhance growth of CD133 expression cells *in vitro*. *Hybridoma*, 29: 241–249.
 82. Hadjilpanayis C.G., Van Meir E.G. (2009) Tumor initiating cells in malignant gliomas: biology and implications for therapy. *J. Mol. Med.*, 87(4): 363–374.
 83. Piccirillo S.G., Reynolds B.A., Zanetti N., Lammorte G. et al. (2006) Bone morphogenetic proteins inhibit the tumorigenic potential of human brain tumour-initiating cells. *Nature*, 444: 761–765.
 84. Lee J., Son M.J., Woolard K., Donin N.M. et al. (2008) Epigenetic-mediated dysfunction of the bone morphogenetic protein pathway inhibits differentiation of glioblastoma-initiating cells. *Cancer Cell.*, 13: 69–80.
 85. Gilbertson R.J., Rich J.N. (2007) Making a tumour's bed: glioblastoma stem cells and the vascular niche. *Nat. Rev. Cancer*, 7: 733–736.
 86. Calabrese C., Poppleton H., Kocak M., Hogg T.L. et al. (2007) A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell.*, 11: 69–82.

87. Bao S., Wu Q., Sathornsumetee S. et al. (2006) Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor. *Cancer Res.*, 66: 7843–7848.
 88. Lee J., Kotliarova S., Kotliarov Y., Li A. et al. (2006) Tumor stem cells derived from glioblastomas cultured in bFGF and EGF more closely mirror the phenotype and genotype of primary tumors than do serum-cultured cell lines. *Cancer Cell.*, 9: 391–403.
 89. Rich J.N. (2007) Cancer stem cells in radiation resistance. *Cancer Res.*, 67: 8980–8984.
 90. Nakanishi Y., Seno H., Fukuoka A. et al. (2013) Dcl1 distinguishes between tumor and normal stem cells in the intestine. *Nat. Genet.*, 45: 98–103.
 91. Sarkar A., Hochedlinger K. (2013) The sox family of transcription factors: versatile regulators of stem and progenitor cell fate. *Cell Stem Cell.*, 12: 15–30.
 92. Boumahdi S., Driessens G., Lapouge G. et al. (2014) SOX2 controls tumour initiation and cancer stem cell functions in squamous-cell carcinoma. *Nature*, 511: 246–50.

Роль стовбурових клітин у канцерогенезі та імунотерапії пухлин

М.І. Лісяний¹, Ю.Я. Гриневиць²

¹ДУ «Інститут нейрохірургії НАМН України», Київ
²Національний інститут раку, Київ

Резюме. Згідно із сучасними теоріями канцерогенезу генетичні, епігенетичні і транскрипційні зміни у здорових клітинах призводять до онкотрансформації їх в ракові клітини, для яких властиві стійка проліферація, інвазія, метастазування, реплікаційне безсмертя і ангиогенез, а також стійкість до пригнічення росту і апоптозу, що разом і визначає характеристику злоякісного росту. Вивчення генетичної різноманітності й антигенного складу первинних пухлин показало значну внутрішньопухлинну гетерогенність різних типів раку, що складаються із суміші генетично різних субклонів клітин первинної гетерогенної пухлини, серед котрих тільки один або, можливо, кілька типів клітин можуть дати розвиток метастазам, рецидивному росту пухлини або індукувати пухлину в експерименті, що слугувало підставою для виділення окремого клону клітин — пухлинних стовбурових клітин (ПСК), що володіють властивостями як нормальних, так і пухлинних стовбурових клітин. В огляді детально аналізуються основні дані про властивості ПСК: велика міграційна здатність, хіміо- та радіорезистентність, здатність індукувати ріст пухлин в експерименті, диференційна мімікрія, здатність до інфузії з клітинами господаря, ангиогенезу та індукції росту судин. Відзначається відсутність єдиного погляду на природу ПСК і вказується на спробу розділяти їх на кілька субпопуляцій: пухлино-ініціюючі стовбурові клітини, пухлинні прогеніторні клітини, пухлинні резистентні до хіміотерапії стовбурові клітини. Кожна з цих субпопуляцій здатна до самовідтворення або перетворення одна в одну. Визначення специфічних онкогенних або ембріональних білків на ПСК необхідно не тільки для характеристики і верифікації типів ПСК у різних за гістологічними ознаками пухлинах, а й для прогнозу результатів лікування. Отримання сучасних біотехнологічних препаратів типу моноклональних антитіл або онковакцин, спрямованих проти ПСК, дозволить удосконалити стратегію комбінованого лікування хворих зі злоякісними новоутвореннями.

Ключові слова: злоякісні пухлини, гліобластоми, гетерогенність пухлин, пухлинні стовбурові клітини, CD133⁺ клітини, диференційна мімікрія, клітинна інфузія, неоангиогенез.

The significance of cancer stem cells in oncogenesis and immunotherapy of tumors

N.I. Lysianyi¹, U.A. Grinevich²

¹SI «Institute of Neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov, NAMS of Ukraine», Kyiv
²National Cancer Institute, Kyiv

Summary. According to the modern theories of oncogenesis it is supposed that genetic, epigenetic and transcriptional changes in normal cells lead to its oncotransformation into cancer cells, which are characterized by stable proliferation, invasion, metastasis, replication immortality, angiogenesis and also resistance to growth suppression and apoptosis, which altogether determine characteristics of cancerous growth. The analyses of genetic variety and antigen composition of primary tumors showed significant intratumoral heterogeneity of different types of cancers, which are consisting of mixture of genetically different sub clones of cells of primary heterogenic tumor, among which only one or perhaps several types of cells can develop metastasis, recurrent growth of the tumor or induce the tumor in experiment, which had become the basis for expression of the separate cell clone — cancer stem cells (CSC) possessing the features of normal stem cells and the tumor as well. In this review the detailed analyses of major data concerning the features of CSC is presented — these are large migration ability, chemo and radio resistivity, ability to induce the tumor growth in experiment, differential mimicry, ability to infusion with host cells, angiogenesis and induction of vessel growth. It is noted that there is no common view on the nature of CSC and the attempt to divide it in several subpopulations is pointed out: the tumor initiating stem cells, tumor progenitor cells, resistant to chemotherapy tumor stem cells. Each of this subpopulations has ability to self reproduction or transformation into one another. The detection of specific oncogenic or embryonic proteins on CSC is required not only to characterize and verify the types of CSC in histologically different tumors, but also for making a prognosis of treatment results. The development of innovation biotechnological drugs like monoclonal antibodies or oncovaccines targeting the CSC will allow to improve the strategy of combined treatment in patients with malignant neoplasms.

Key words: malignant tumors, glioblastomas, tumor heterogeneity, cancer stem cells, CD133⁺ cells, differential mimicry, cell infusion, neoangiogenesis.