

РОЛЬ СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В РАЗВИТИИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ МЕЛАНОМЫ

С.В. Чулкова^{1,2}, И.Г. Маркина¹, О.А. Чернышева¹, Н.В. Грищенко¹, А.С. Антипова¹, К.С. Титов³,
Д.А. Рябчиков¹, А.В. Егорова², Д.Р. Насхлеташвили¹, Н.Н. Тупицын¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1а;

³ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения
г. Москвы»; Россия, 111123 Москва, ш. Энтузиастов, 86

Контакты: Светлана Васильевна Чулкова chulkova@mail.ru

Несмотря на то, что меланома кожи относится к опухолям наружных локализаций, она является лидером по онкологической смертности во многих странах мира. Раннее метастазирование меланомы даже при начальных стадиях опухолевого процесса свидетельствует о высоком злокачественном потенциале опухоли. Более того, метастатическая меланома нередко устойчива к режимам лекарственной терапии, что является существенной проблемой на сегодняшний день. Агрессивность течения меланомы, ее устойчивость к противоопухолевым препаратам связывают с наличием популяции опухолевых стволовых клеток, для которых характерны нарушения регуляции сигнальных путей и aberrantные фенотипы. Формированию опухолевых стволовых клеток способствует их микроокружение. Поверхностные маркеры, экспрессируемые опухолевыми стволовыми клетками, включают в себя белки-транспортёры — медиаторы лекарственной резистентности. Изучение микроокружения, активности экспрессируемых антигенных детерминант позволяет понять процессы формирования резистентности и разработать стратегии ее преодоления. В статье приводится анализ современных данных литературы о значимости опухолевых стволовых клеток в развитии лекарственной резистентности меланомы.

Ключевые слова: опухолевые стволовые клетки, меланома, лекарственная резистентность, CD271, ABCB5

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-2-6-14

THE ROLE OF TUMOR STEM CELLS IN THE DEVELOPMENT OF DRUG RESISTANCE OF MELANOMA

S.V. Chulkova^{1,2}, I.G. Markina¹, O.A. Chernysheva¹, N.V. Grishchenko¹, A.S. Antipova¹, K.C. Titov³,
D.A. Ryabchikov¹, A.V. Egorova², D.R. Naskhletashvili¹, N.N. Tupitsyn¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe Sh., Moscow 115478, Russia;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of Russia;
1 Ostrovitianov St., Moscow 117997, Russia;

³A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center; 86 Shosse Entuziastov, Moscow 111123, Russia

Despite the fact that melanoma is a tumor of visual localization, mortality from skin melanoma remains one of the leading causes of mortality worldwide. Early metastasis of melanoma, even during the initial stages of the tumor process, indicates a high malignant potential of the tumor. Moreover, metastatic melanoma is resistant to current chemotherapy regimens, which is a significant problem today. Progression, resistance to drug therapy of skin melanoma is associated with a population of tumor stem cells, which are characterized by dysregulation of signaling pathways and aberrant phenotypes. The formation of tumor stem cells contributes to their microenvironment. Surface markers expressed by tumor stem cells include transporter proteins that mediate chemoresistance. The study of the microenvironment, the activity of the expressed antigenic determinants makes it possible to understand the processes of chemoresistance formation and to discover (develop) strategies for its overcoming. The article provides an analysis of the literature data on the significance of tumor stem cells in the development of drug resistance of melanoma.

Key words: tumor stem cells, melanoma, drug resistance, CD271, ABCB5

Введение

Меланома кожи — агрессивная злокачественная неэпителиальная опухоль с высоким потенциалом метастазирования. Несмотря на то, что выживаемость пациентов с диагнозом «меланома» значитель-

но улучшилась за последние десятилетия, современные эпидемиологические исследования четко демонстрируют рост заболеваемости [1]. По прогнозу Всемирной организации здравоохранения, частота возникновения меланомы в течение ближайших 10 лет

вырастет на 25 %, что позволяет рассматривать этот факт как общемировую тенденцию [2].

Своевременная диагностика меланомы кожи на ранних стадиях и радикальное хирургическое удаление первичной опухоли могут служить залогом успешного лечения меланомы. Тем не менее даже при современном уровне развития медицины каждый 3-й случай меланомы заканчивается летальным исходом. Это обусловлено выраженной инвазивной способностью опухолевых клеток и, как следствие, высокой частотой прогрессирования, что является одной из основных проблем, с которой сталкивается онколог при лечении больных меланомой. Так, для пациентов с «тонкой» меланомой (толщина по Бреслоу <1 мм), на долю которых приходится около 70 % новых случаев, риск диссеминации составляет 25 % [3]. Несмотря на совершенствование адъювантной терапии меланомы, приблизительно у 75 % больных, относящихся к группе высокого (стадии ПС, ПШ и ППС) риска прогрессирования, метастазы развиваются в первые 2 года [4].

Лечение метастатической меланомы является особенно сложной задачей, поскольку пациенты имеют высокую склонность к рецидивам и часто становятся резистентными к используемому терапевтическому агенту [5]. Несмотря на разработку и широкое внедрение в практическое здравоохранение таргетной и иммуноонкологической терапии, показавшей несомненное клиническое преимущество по сравнению со стандартными химиотерапевтическими режимами, 5-летняя выживаемость пациентов с метастазами составляет не более 16 % [6], а 10-летний рубеж переживают не более 10 % больных пациентов [7]. Устойчивость меланомы к лекарственной и лучевой терапии — основным методам лечения опухолей остается серьезной проблемой для клиницистов [8, 9].

Все больше появляется доказательств того, что минорная популяция опухолевых стволовых клеток (ОСК) является причиной развития резистентности меланомы к системной лекарственной терапии. ОСК характеризуются экспрессией определенных поверхностных маркеров резистентности, а также антиапоптотических молекул, вместе с тем для них свойственна относительная устойчивость к окислительным процессам и повреждениям ДНК.

В связи с этим изучение фенотипа ОСК, сигнальных путей, микросреды — неотъемлемая ступень к пониманию процессов формирования лекарственной резистентности меланомы кожи. Таким образом, глобальной целью перед мировым научным сообществом на сегодняшний день является разработка лечебных стратегий по элиминации популяции резистентных ОСК для достижения полного контроля над заболеванием, которое остается одной из ведущих причин смертности во всем мире [10, 11].

Опухолевые стволовые клетки

Хотя на протяжении десятилетий было известно, что опухоли не являются однородными, недавнее исследование секвенирования следующего поколения показало, что злокачественные образования имеют гораздо более высокую степень генетической внутриопухолевой гетерогенности, чем считалось ранее, и фенотипическое разнообразие этих субпопуляций может способствовать опухоли быстро адаптироваться и переживать химиотерапевтическое лечение [12].

Экспериментальные данные в онкологии последних нескольких лет подтверждают и углубляют хорошо известное положение о том, что злокачественные опухоли представляют собой гетерогенную популяцию клеток с различными биологическими свойствами [13–16]. Гетерогенность опухоли обусловлена мутациями, которые возникают в новых клонах опухолевых клеток, и зависит от ее микроокружения.

Существуют 2 доминирующие концепции для объяснения опухолевой гетерогенности: 1) теория ОСК, или иерархическая модель и 2) стохастическая модель (рис. 1) [17]. Стохастическая модель утверждает, что все клетки в опухоли обладают сходным онкогенным и самообновляющимся потенциалом и что гетерогенность является результатом процесса клонального отбора, при котором отдельные опухолевые клетки приобретают генетические или эпигенетические изменения. Эти изменения часто обусловлены микроокружением опухоли и являются результатом внешних факторов, таких как гипоксический стресс, иммунная атака, метаболический стресс или лекарственное/токсическое воздействие, которые придают фенотипические различия опухолевым клеткам и предоставляют им преимущество или недостаток в выживании [18].

Иерархическая модель, в отличие от стохастической, предполагает, что рост и прогрессирование многих видов рака обусловлены небольшими субпопуляциями клеток, которые называют опухолевыми стволовыми. ОСК обладают способностями к самообновлению и дифференцировке, а также к стимулированию роста и метастазирования опухолей, тогда как большинство опухолевых клеток имеет ограниченный пролиферативный потенциал [19–21]. По сравнению с доминирующим клоном опухолевых клеток и нормальными стволовыми клетками (СК) ОСК имеют нарушение регуляции сигнальных путей и аберрантные фенотипы. Несмотря на то что ОСК обладают определенными функциональными свойствами (неограниченное число делений и постоянное самовоспроизведение), они обычно идентифицируются на основании экспрессии специфических маркеров клеточной поверхности, что позволяет проводить их выделение из популяции опухолевых клеток [22].

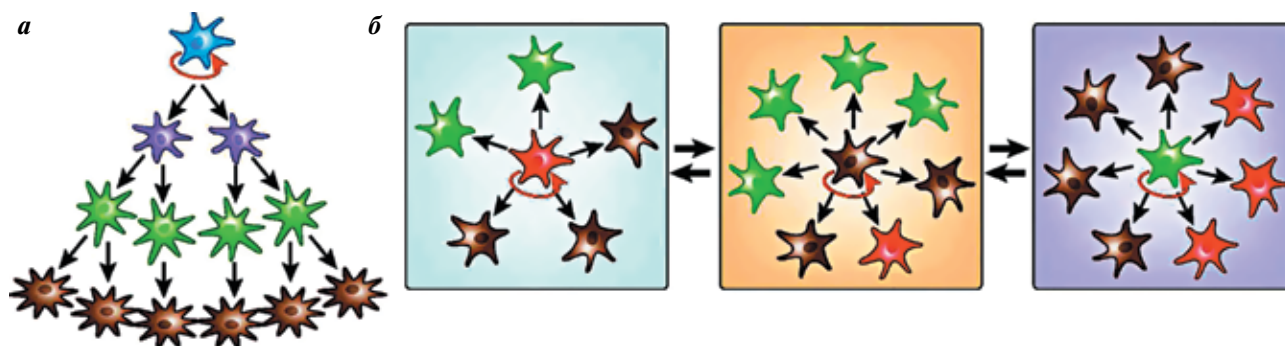


Рис. 1. Модели опухолевых стволовых клеток: а — иерархическая; б — динамическая, управляемая ТМЕ модель (адаптировано из [17])
Fig. 1. Model of tumor stem cells: a — hierarchical; б — dynamic, TME-driven model (adapted from [17])

Фенотип клеток меланомы и микроокружение

Физиологические СК меланоцитов характеризуются фенотипом Pax³+, Sox10– и Mitf [23]. Баланс между самообновлением и дифференцировкой СК меланоцитов, располагающихся в определенном месте волосяного фолликула, покоем и пролиферацией дополнительно регулируется сигнальными молекулами Notch и/или Wnt (рис. 2). Нарушение этих регуляторных сигналов приводит к ошибкам в способности СК меланоцитов поддерживать свои пулы СК или обеспечивать пигментированное потомство [24].

Считается, что гомеостаз этих ограниченных по происхождению СК меланоцитов поддерживается посредством взаимодействий с физиологической средой, в основном состоящей из Е-кадгерин-экспрессирующих кератиноцитов. На СК также влияют эпителиальные СК, белки внеклеточного матрикса и ряд секретируемых факторов, которые способствуют или ограничивают их мультипотентность или самообновление. Таким образом, микроокружение предотвращает истощение СК, одновременно защищая организм от их избыточной пролиферации. СК, в свою очередь, способны влиять на стромальное окружение, используя его для своего развития.

Фенотип меланомы описан как пластический и мультипотентный, аналогичный во многих отношениях фенотипу эмбриональных СК [25]. Поверхностные маркеры, которые экспрессируются стволовыми клетками меланомы (СКМ), включают ABCB5, CD133, 271, CD20. Кроме того, Nodal или BMP4 могут секретироваться популяциями СКМ. Различные изменения в микроокружении могут способствовать формированию СКМ и последующему СКМ-управляемому меланомогенезу.

Клетки злокачественного микроокружения (в числе которых мезенхимальные СК) продуцируют большое количество пролиферативных факторов роста, включая bFGF, HIF, IGF-1, TGF-β и VEGF. Последние стимулируют пролиферацию СКМ [26].

Факторы роста продуцируются N-кадгерин-экспрессирующими эндотелиальными клетками, фибро-

бластами. СКМ могут активно изменять окружающую среду с помощью секретируемых факторов (Nodal или BMP), поддерживая тем самым нишу, благоприятную для возникновения и роста опухоли [27]. CD166, CXCR4 или NEDD9 могут играть роль в инвазии, миграции и метастазировании клеток меланомы [28].

Для ОСК характерна aberrantная активация сигнальных путей, что приводит к нарушению баланса между самообновлением и дифференцировкой ОСК и, как следствие — неконтролируемой пролиферации клеток [29]. Молекулы Nodal и меланотрансферрин ассоциированы с онкогенным потенциалом меланомы и ростом опухоли [27]. В ходе меланомогенеза возможно слияние СКМ с более дифференцированными, включая нормальные типы, клетками [30]. Это позволяет ОСК имитировать нормальный фенотип и функции СК. Пластичность СКМ таким образом маскирует популяции от иммунного надзора. Вместе с тем относительный покой, нарушение функции апоптоза, выраженная экспрессия ABCB5 и других медиаторов способствуют устойчивости СКМ к терапии.

Лекарственная резистентность и опухолевые стволовые клетки

Исследователи сообщают, что субпопуляции СКМ могут быть причиной резистентности данной опухоли к лекарственной терапии и инициировать рост опухоли через продолжительное время после полной клинической ремиссии [14, 31, 32]. Субпопуляции СК отличаются выраженной экспрессией антиапоптотических белков и высокой активностью медиаторов химиорезистентности. Установлено, что гиперэкспрессия CD133 популяцией СКМ связана с прогрессированием заболевания на фоне стандартной системной лекарственной терапии, в то время как ингибирование CD133 приводит к торможению опухолевого роста и процессов метастазирования [33]. E. Monzani и соавт. обнаружили, что СКМ с фенотипом, характеризующимся позитивностью CD133,

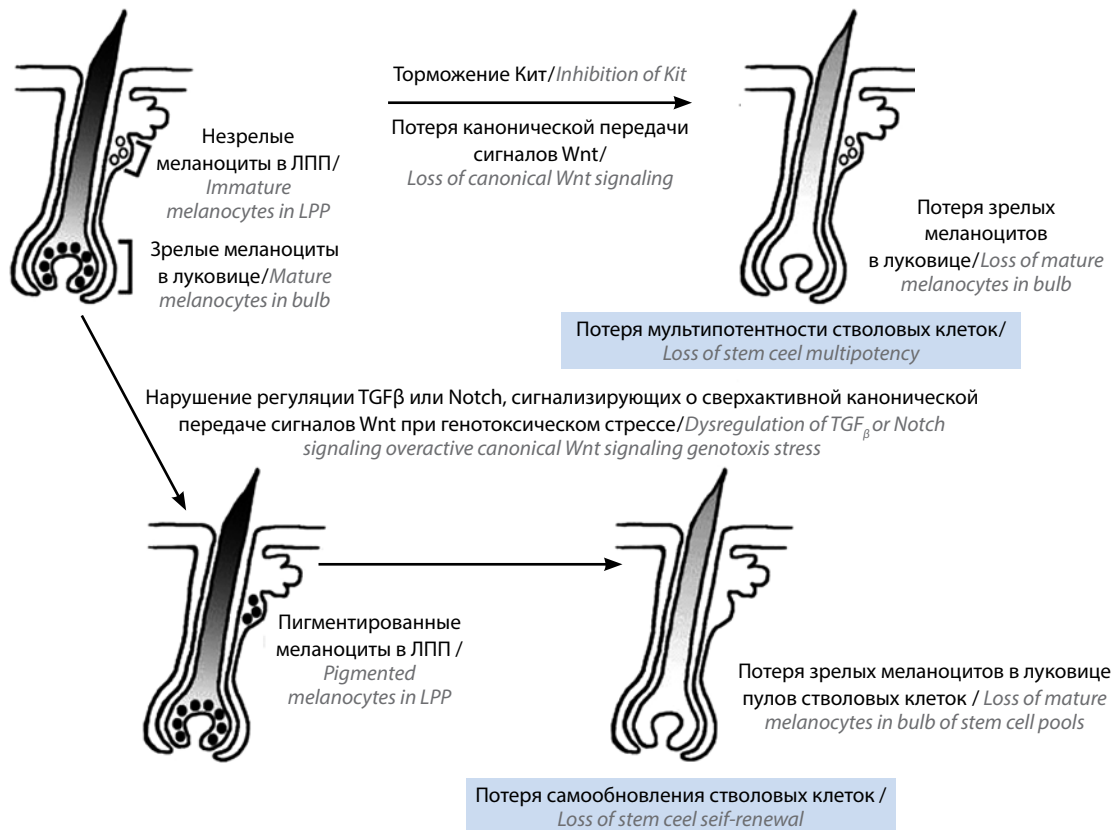


Рис. 2. Роль передачи сигналов Wnt, TGFβ, Notch в нарушении гомеостаза СК меланоцитов. Адаптировано из [23]

Fig. 2. The role of Wnt, TGFβ, Notch signaling in impaired homeostasis of SC melanocytes. Adapted from [23]

выраженно экспрессировали ABCG2. N.Y. Frank и соавт. продемонстрировали, что при меланоме хе-морезистентность к доксорубину обусловлена повышенной экспрессией СКМ транспортера ABCB5. G. Rappa и соавт. предложили рассматривать популяцию СКМ CD133+ в качестве потенциальной мишени для таргетной терапии при метастатической меланоме [34]. В аналогичной роли рассматриваются СКМ, экспрессирующие CD20, поскольку использование анти-CD20-антител у больных меланомой кожи, резистентных к нескольким видам системной лекарственной терапии, приводило к длительным ремиссиям [35, 36].

Установлено, что высокие уровни экспрессии маркера CD271 СКМ у пациентов коррелируют с высоким метастатическим потенциалом опухоли и худшим прогнозом [37, 38]. G. Restivo и соавт. в исследовании показали, что CD271 является ключевым эффектором в переключении фенотипа клеток меланомы [39]. Согласно модели «переключения фенотипов» агрессивный характер клеток меланомы обусловлен их внутренним потенциалом для динамического перехода от высокопролиферативного/низкоинвазивного к низкому пролиферативному/высокоинвазивному состоянию [28, 40, 41]. CD271 играет двоякую

роль в этом процессе, уменьшая распространение, одновременно способствуя инвазивности опухоли. Динамическая модификация экспрессии CD271 позволяет опухолевым клеткам пролиферировать при низких уровнях экспрессии CD271 [22]. Торможение опухолевого роста происходит при выраженной экспрессии данного маркера. Возобновление пролиферации ОСК на удаленном участке возможно после уменьшения экспрессии CD271. Механически расщепленный внутриклеточный домен CD271 контролирует пролиферацию, тогда как взаимодействие CD271 с рецептором нейротрофина Trk-A модулирует клеточную адгезию и инвазивность [39].

Приобретение инвазивного поведения клеток сопряжено также с процессом эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), при котором наблюдается ослабление межклеточной адгезии ввиду утраты или снижения экспрессии клетками молекул E-кадгерина. Последнее является одним из механизмов, запускающих процессы метастазирования, формирования преметастатических ниш [26]. С учетом научных данных в отношении популяции СКМ, экспрессирующих CD271, интересными представляются результаты исследования A. Lehraiki и соавт., которые выявили, что блокирование маркера CD271

приводило не только к уменьшению выживаемости клеток меланомы, но и к повышенной чувствительности к терапии BRAF-ингибиторами. Безусловно, этот факт указывает на то, что популяции СКМ, экспрессирующие CD271, устойчивы к лекарственной терапии [42]. Кроме того, к эффекту противоопухолевых препаратов резистентны популяции ОСК меланомы, имеющие выраженную экспрессию медиатора химиорезистентности ABCB5 [31].

Следует отметить, что в основе более высокой выживаемости популяции резистентных ОСК меланомы при длительном на них воздействии химиотерапевтических препаратов могут лежать разные механизмы лекарственной устойчивости. Одним из важнейших механизмов химиорезистентности является активность транспортных белков семейства ABC-1,2,5. Известно, что транспортные белки семейства ABC (белки-транспортеры) экспрессируются популяциями ОСК и выводят из клеток организма токсические соединения. Гены, кодирующие ABC-белки, содержатся во всех живых клетках. ABCB5 — белок, который коэкспрессируется в перекрывающейся, но не идентичной структуре с CD133 в клеточной линии меланомы G3361 и образцах первичной опухоли меланомы, а также субпопуляцией клеток, экспрессирующих маркер CD271 [31]. ABCB5 входит в подсемейство В, как и ABCB1, и гомологичен ему на 73 %. Он выбрасывает родамин-123 и доксорубин из клеток [31, 43], влияет на электрический потенциал клеточной мембраны и способствует слиянию клеток. ABCB5 экспрессируется также СК гепатом и лекарственно-устойчивыми клетками колоректального рака [43, 44]. ABCB2 — белок, который вовлечен в контроль клеточного цикла СК/клеток-предшественников сердечной мышцы [45]. Это позволяет предположить, что ABC-транспортеры, возможно, участвуют в регуляции «стволового фенотипа» клеток, поддерживая их популяцию [46].

В целом ряде клинических исследований по изучению роли транспортного белка ABCB5 ученые установили, что гиперэкспрессия ОСК меланомы транспортера ABCB5 строго коррелирует с опухолевой прогрессией, развитием рецидивов и лекарственной резистентности [43, 47–50]. Кроме того, выраженная экспрессия медиатора ассоциирована с клоногенетическим потенциалом клеток меланомы *in vitro* [51–53].

Без сомнения, полученные данные не остались без внимания, и учеными были предприняты попытки по разработке лекарственных препаратов, способных блокировать экспрессию транспортных белков семейства ABC. Хотя ABCB5 широко изучался при различных злокачественных опухолях человека, лишь немногие исследовали транспортер ABCB5 при мышинной меланоме. Так, китайские исследова-

тели в ходе поиска путей решения преодоления лекарственной резистентности ОСК меланомы получили весьма обнадеживающие результаты. Блокирование активности транспортера ABCB5 приводило к торможению опухолевого роста *in vivo* и восстановлению чувствительности клеток меланомы B16F10 к химиотерапевтическим препаратам *in vitro* [11]. В этом исследовании X. Zhang и соавт. использовали специально разработанное антитело VNP20009, безопасность которого доказана в I фазе клинических испытаний. Его вводили мышам совместно с циклофосфамидом. Результатом такого комбинированного лечения было снижение экспрессии транспортера ABCB5, которое восстанавливало чувствительность к химиотерапевтическим препаратам, вело к уменьшению роста опухоли и увеличению выживаемости на первичной модели мышей B16F10.

Американские ученые получили также весьма любопытные данные в ходе исследования потенциального таргетного препарата — фенолэтилового эфира кофейной кислоты (CAPE), представляющего собой биологически активную жидкость, противоопухолевая активность которой установлена при многих видах злокачественных опухолей. CAPE индуцировал как апоптоз, так и экспрессию E2F1 в CD133-негативных субпопуляциях СКМ, однако этот эффект не наблюдался в субпопуляциях CD133+. Отмечено, что устойчивость клеток СКМ, экспрессирующих CD133+, ассоциирована с выраженной экспрессией медиатора лекарственной устойчивости ABCB5. В эксперименте нокдаун генов, кодирующих белки-транспортеры ABCB5, приводил к повышению чувствительности СКМ субпопуляции CD133+ к CAPE. CAPE-индуцированный апоптоз опосредуется белком E2F1, поскольку нокдаун гена, кодирующего E2F1, приводил к подавлению апоптоза. Кроме того, в результате индукции экспрессии E2F1 повышалась экспрессия проапоптотических белков (Bax, Noxa и Puma) и снижалась экспрессия антиапоптотического белка Mcl-1. В ходе исследования учеными установлено усиление активации регулирующей сигнал апоптоза киназы (ASK1), c-Jun N-терминальной киназы и p38, а также (связывающих активность ДНК) факторов транскрипции AP-1 и p53. Таким образом, авторы показали, что E2A1 преодолевает химиорезистентность СКМ субпопуляции CD133+ посредством механизма, запускающего митохондриальную дисрегуляцию и ER-стресс-зависимые пути [54].

Важной причиной развития лекарственной устойчивости меланомы к традиционным видам терапии является дисрегуляция сигнальных путей Notch, Hedgehog, Wnt. Баланс между самообновлением и дифференцировкой, покоем и пролиферацией СК обеспечивается сигнальными молекулами Notch, Wnt. Ранее было установлено, что продукт

гена *Numb* действует как ингибитор путей Notch, Hedgehog. Конститутивная активация Notch1 путем эктопической экспрессии внутриклеточного домена (NIC) Notch1 позволяет клеточным линиям первичной меланомы пролиферировать *in vitro* независимо от факторов роста и расти более агрессивно с метастатической активностью *in vivo*. Важно отметить, что передача сигналов Notch может быть опосредована путем активации путей β -катенина или митоген-активируемой протеинкиназы/фосфатидилинозитол-3-киназы-Akt. Это представляет особый интерес, поскольку передача сигналов Notch участвует в поддержании популяции СК в нескольких типах тканей [55]. В своих исследованиях М. Moriyama и соавт. подчеркнули ключевую роль aberrантной активации сигнального пути Notch в поддержании выживания клеток-предшественников меланоцитов, меланобластов и СК меланоцитов [55, 56]. Кроме того, они установили, что гиперэкспрессия рецепторов Notch и их лигандов (Jagged-1, Jagged-2 и Delta) коррелировала с ростом и прогрессированием меланомы *in vivo*.

Итак, Notch является транспортным рецептором, осуществляющим передачу регуляторных воздействий при непосредственном контакте с клетками. При его участии осуществляется регуляция клеточной пролиферации, апоптоза, процессов метастазирования [46]. Notch-сигнальный путь задействован в процессах формирования метастатических ниш, дифференцировки клеток, в том числе в процессах ЭМП, при котором клетки приобретают инвазивное поведение. ЭМП характеризуется ослаблением межклеточной адгезии, которая происходит в результате гипоекспрессии Е-кадгерина или полной его утраты [57]. С процессом ЭМП также тесно связана экспрессия ABC-транспортёров. В экспериментальных исследованиях установлено, что ЭМП в неинвазивных культурах клеток рака молочной железы повышает степень экспрессии ABC-транспортёров и способность клеток к миграции и инвазии [46]. Таким образом, оказывается, что развитие лекарственной устойчивости сопряжено с процессом ЭМП, приобретением ОСК инвазивных свойств, а также накоплением в популяции СК.

Многие исследования с целью преодоления лекарственной резистентности преследуют задачу снижения экспрессии указанных транспортёров. Так, Honokiol (HNK), бифенольное природное соединение, снижает экспрессию различных маркеров СК, таких как CD271, CD166, JARID1B, в том числе ABCB5, при меланоме. Кроме того, HNK также значительно ослабляет свойства ОСК посредством ингибирования передачи сигналов Notch-2. G. Kaushik и соавт. изучили влияние HNK на передачу сигналов Notch клетками меланомы [58]. В клетках существуют 4 разных рецептора Notch, приводящих при расщеп-

лении серией ферментативных реакций к высвобождению внутриклеточного домена Notch, который затем перемещается в ядро и вызывает экспрессию целевых генов, регулирующих баланс между пролиферацией, клеточной смертью и дифференцировкой. Вестерн-блоттинг показал, что в клетках, обработанных HNK, наблюдается значительное снижение экспрессии расщепленного Notch-2. Авторы сделали вывод, что HNK является мощным ингибитором клеток меланомы, частично посредством нацеливания на СКМ путем подавления передачи сигналов Notch-2.

Заключение

Указанные данные свидетельствуют о том, что небольшие популяции клеток меланомы способствуют формированию лекарственной устойчивости. По сравнению с другими клетками доминирующего опухолевого клона они обладают способностями к самообновлению и дифференцировке и известны как ОСК. Следует подчеркнуть, что ОСК отличаются выраженным метастатическим потенциалом и способствуют прогрессированию меланомы, что подтверждено многочисленными исследованиями.

Поверхностные маркеры, которые экспрессируются СКМ, включают транспортные белки семейства ABC – ABCB5, гиперэкспрессия которых способствует устойчивости ОСК меланомы к традиционной лекарственной терапии. Кроме того, в процессе развития химиорезистентности немаловажную роль играет дисрегуляция сигнальных путей Notch, Hedgehog, Wnt, обеспечивающих баланс между самообновлением и дифференцировкой, покоем и пролиферацией ОСК. Недавние исследования выявили, что взаимодействие между сигнальными путями Notch и Wnt/ β -катенин обеспечивает бесконтрольное самообновление ОСК. Вместе с тем изменения микроокружения могут способствовать формированию СКМ и последующему СКМ-управляемому меланомогенезу. Не следует забывать, что относительный покой, нарушение функции апоптоза, выраженная экспрессия ABCB5 и других медиаторов способствуют устойчивости СКМ к терапии. В свою очередь, ОСК, влияя на окружающую среду с помощью секретируемых факторов (Nodal или BMP), поддерживают тем самым нишу, благоприятную для возникновения и роста опухоли.

Таким образом, имеющиеся достижения в изучении ОСК меланомы показывают высокую динамичность и сложность этой популяции клеток. Чтобы разработать эффективные терапевтические средства, направленные на ОСК, мы должны лучше понять биологию этих клеток и роль, которую играют микроокружение, стрессовые факторы и соматическая эволюция. Создание точных методов анализа ОСК меланомы является приоритетным направлением

дальнейших исследований, окончательной целью которых остается разработка стратегий селективного ингибирования ОСК в результате воздействия на мембранные маркеры и сигнальные молекулы,

прерывания сигнальных путей и изменения состава и функции микроокружения, что в конечном итоге может обеспечить дальнейший необходимый прорыв в лечении меланомы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Karimkhani C., Green A.C., Nijsten T. et al. The global burden of melanoma: results from the Global Burden of Disease study 2015. *Br J Dermatol* 2017;177(1): 134–40. DOI: 10.1111/bjd.15510.
2. Jain D., Singh T., Kumar N., Daga M.K. Metastatic malignant melanoma in bone marrow with occult primary site – a case report with review of literature. *Diagn Pathol* 2007;2:38. DOI: 10.1186/1746-1596-2-38.
3. Hieken T.J., Grotz T.E., Comfere N.I. et al. the effect of the AJCC 7th edition change in T1 melanoma substaging on national utilization and outcomes of sentinel lymph node biopsy for thin melanoma. *Melanoma Res* 2015;25(2):157–63. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000143.
4. Balch C.M., Soong S.J., Gershenwald J.E. et al. Prognostic Factors Analysis of 17,600 Melanoma Patients: Validation of the American Joint Committee on Cancer Melanoma Staging System. *J Clin Oncol* 2001;19(16):3622–34. DOI: 10.1200/JCO.2001.19.16.3622.
5. Holderfield M., Deuker M.M., McCormick F., McMahon M. Targeting RAF kinases for cancer therapy: BRAF-mutated melanoma and beyond. *Nat. Rev. Cancer* 2014;14(7):455–67. DOI: 10.1038/nrc3760.
6. American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2015. <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2015.html>
7. Trotter S.C., Sroa N., Winkelmann R.R. et al. A Global Review of Melanoma Follow-up Guidelines. *J Clin Aesthet Dermatol* 2013;6(9):18–26.
8. Biddle A., Mackenzie I.C. Cancer stem cells and EMT in carcinoma. *Cancer Metastasis Rev* 2012. DOI:10.1007/s10555-012-9345-0.
9. El-Khattouti A., Selimovic D., Haikel Y. et al. Identification and analysis of CD133(+) melanoma stem-like cells conferring resistance to taxol: An insight into the mechanisms of their resistance and response. *Cancer Lett* 2014;343:123–33. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.09.024.
10. Титов К.С., Барышникова М.А., Казаков А.В. и др. Прогностическое значение стволовых клеток опухоли и экспрессии ALK у пациентов с первичной меланомой кожи. *Практическая онкология* 2019;20(1):72–9. DOI: 10.31917/2001072. [Titov K.S., Baryshnikova M.A., Kazakov A.M. Prognostic significance of stem cells tumors and ALK expression in patients with primary skin melanoma. *Prakticheskaya oncologiya* = Practical oncology 2019;20(1): 72–9. (In Russ.)].
11. Zhang X., Cheng X., La Y. et al. Salmonella VNP20009-mediated RNA interference of ABCB5 moderated chemoresistance of melanoma stem cell and suppressed tumor growth more potently. *Oncotarget* 2016;7(12):14940–50. DOI: 10.18632/oncotarget.7496.
12. Klein W.M., Wu B.P., Zhao S. et al. Increased expression of stem cell markers in malignant melanoma. *Mod Pathol* 2007;20(1):102–7. DOI: 10.1038/modpathol.3800720.
13. Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:3983–8. DOI: 10.1073/pnas.0530291100.
14. Fang D., Nguyen T.K., Lishear K. et al. A tumorigenic subpopulation with stem cell property in melanomas. *Cancer Res* 2005;65(20):9228–37. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1343.
15. Ricci-Vitiani L., Lombardi D.G., Pilozzi E. et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007;445(7123):111–5. DOI: 10.1038/nature05384.
16. Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D. et al. Identification of human brain tumour initiating cell. *Nature* 2004;432(7015):396–401. DOI: 10.1038/nature03128.
17. Bissell M.J., Hines W.C. Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression. *Nat Med* 2011;17(3): 320–9. DOI: 10.1038/nm.2328.
18. M. Fukunaga-Kalabis, A. Roesch, M. Herlyn. From cancer stem cells to tumor maintenance in melanoma. *J Invest Dermatol* 2011. DOI: 10.1038/jid.2011.159
19. Чулкова С.В. Биомаркеры стволовых клеток рака желудка. *Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии* 2018;10:11–8. DOI: 10.29296/25877313-2018-10-02. [Chulkova S.V. Biomarkers of gastric cancer stem cells. *Voprosy biologicheskoy meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii* = Questions of biological medical and pharmaceutical chemistry 2018;10:11–8. (In Russ.)].
20. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144(5):646–74. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
21. Wang Z., Ouyang G. Periostin: a bridge between cancer stem cells and their metastatic niche. *Cells Stem Cells* 2012;10(2):111–2. DOI: 10.1016/j.stem.2012.01.002.
22. Чулкова С.В., Маркина И.Г., Антипова А.С. и др. Роль стволовых опухолевых клеток в канцерогенезе и прогнозе меланомы. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии* 2018;4:100–6. [Chulkova S.V., Markina I.G., Antipova A.S. et al. The role of stem tumor cells in carcinogenesis and prognosis of melanoma. *Vestnik Rossiyskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii* = Bulletin of the Russian Scientific Center of X-ray Radiology 2018;4:100–6. (In Russ.)].
23. Nishikawa S., Osawa M. Generating quiescent stem cells. *Pigment Cell Res* 2007;20:263–70. DOI:10.1111/j.1600-0749.2007.00388.x.
24. Lang D., Mascarenhas J.B., Shea C.R. Melanocytes, melanocyte stem cells, and melanoma stem cells. *Clin Dermatol* 2013;31(2):166. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2012.08.014.
25. Strizzi L., Hardy K.M., Kirsammer G.T. et al. Embryonic signaling in melanoma: potential for diagnosis and therapy. *Lab Invest* 2011;91(6):819–24. DOI: 10.1038/labinvest.2011.63.
26. Alessio A.L., Biagioni F., Bianchini S. et al. Inhibition of uPAR-TGF β crosstalk blocks MSC-dependent EMT in melanoma cells. *J Mol Med* 2015;93(7):783–94. DOI: 10.1007/s00109-015-1266-2.
27. Topczewska J.M., Postovit L.M., Margaryan N.V. et al. Embryonic and tumorigenic pathways converge via Nodal signaling: role in melanoma aggressiveness. *Nat Med* 2006;12:925–32. DOI: 10.1038/nm1448.

28. Schlegel N.C., von Planta A., Widmer D.S. et al. PI3K signalling is required for a TGFβ-induced epithelial-mesenchymal-like transition (EMT-like) in human melanoma cells. *Exp Dermatol* 2015; 24(1):22–8. DOI: 10.1111/exd.12580.
29. Hendrix M.J., Seftor E.A., Hess A.R., Seftor R.E. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: Lessons from melanoma. *Nature Rev Cancer* 2003; 3(6):411–21. DOI: 10.1038/nrc1092.
30. Schatton T., Frank M.H. Cancer stem cells and human malignant melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008;21(1):39–55. DOI: 10.1111/j.1755-148X.2007.00427.
31. Frank N.Y., Margaryan A., Huang Y. et al. ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res* 2005;65(10):4320–33. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3327.
32. Monzani E., Facchetti F., Galmozzi E. et al. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumorigenic potential. *Eur J Cancer* 2007;43(5):935–46. DOI: 10.1016/j.ejca.2007.01.017.
33. Lai C.Y., Schwartz B.E., Shu M.Y. CD133+ melanoma subpopulations contribute to perivascular niche morphogenesis and tumorigenicity through vasculogenic mimicry. *Cancer Res* 2012;72(19):5111–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0624.
34. Rappa G., Fodstad O., Lorico A. The stem cell-associated antigen CD133 (Prominin-1) is a molecular therapeutic target for metastatic melanoma. *Stem Cells* 2008;26(12):3008–17. DOI: 10.1634/stemcells.2008-0601.
35. Schlaak M., Schmidt P., Bangard C. et al. Regression of metastatic melanoma in a patient by antibody targeting of cancer stem cells. *Oncotarget* 2012;3(1):22–30. DOI: 10.18632/oncotarget.437.
36. Pinc A., Somasundaram R., Wagner C. et al. Targeting CD20 in Melanoma Patients at High Risk of Disease Recurrence. *Mol Ther* 2012;20(5):1056–62. DOI: 10.1038/mt.2012.27.
37. Boiko A.D., Razorenova O.V., van de Rijn M. et al. Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271. *Nature* 2010;466(7302):133–7. DOI: 10.1038/nature09161.
38. Ciavenni G., Walter A., Kobert N. et al. Human CD271-positive melanoma stem cells associated with metastasis establish tumor heterogeneity and long-term growth. *Cancer Res* 2011;71(8):3098–09. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3997.
39. Restivo G., Diener J., Cheng P.F. et al. Publisher correction: the low affinity neurotrophin receptor CD271 regulates phenotype switching in melanoma. *Nat Commun* 2018;9(1):314. DOI: 10.1038/s41467-018-02850-8.
40. Hoek K.S., Eichhoff O.M., Schlegel N.C. et al. In vivo switching of human melanoma cells between proliferative and invasive states. *Cancer Res* 2008;68(3):650–6. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2491.
41. Kemper K., de Goeje P.L., Peeper D.S., van Amerongen R. Phenotype switching: tumor cell plasticity as a resistance mechanism and target for therapy. *Cancer Res* 2014;74(21):5937–41. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1174.
42. Lebraiki A., Cerezo M., Rouaud F. et al. Increased CD271 expression by the NF-κB pathway promotes melanoma cell survival and drives acquired resistance to BRAF inhibitor vemurafenib. *Cell Discov* 2015;1:15030. DOI: 10.1038/celldisc.2015.30.
43. Schatton T., Murphy G.F., Frank N.Y. et al. Identification of cells initiating human melanomas. *Nature* 2008;451(7176):345–9. DOI: 10.1038/nature06489.
44. Cheung S.T., Cheung P.F., Cheung C.K. et al. Granulin-epithelin precursor and ATP-dependent binding cassette ABCB5 regulate liver cancer chemoresistance. *Gastroenterology* 2011;140(3):344–55. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.049.
45. Sereti K.I., Oikonomopoulos A., Unno K. et al. ATP-binding cassette G-subfamily transporter 2 regulates cell cycle progression and asymmetric division in mouse cardiac side population progenitor cells. *Circ Res* 2013;112(1):27–34. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.111.300010.
46. Красильников М.А., Зборовская И.Б. Молекулярный канцерогенез. М.: АБВ-пресс, 2016. С.148. [Krasilnikov M.A., Zborovskaya I.B. Molecular carcinogenesis. M.: ABCpress, 2016. P.148. (In Russ.)].
47. Chartrain M., Riond J., Stennevin A. et al. Melanoma chemotherapy leads to the selection of ABCB5-expressing cells. *PLOS One* 2012;7(5):36762. DOI: 10.1371/journal.pone.0036762.
48. Ma J., Frank M.H. Isolation of Circulating Melanoma Cells. *Methods Mol Biol* 2015. 26415609. DOI: 10.1007/7651_2015_300.
49. Suzuki N., Tanaka M., Shirafuji Y. et al. Assessment of melanoma-initiating cell markers and conventional parameters in sentinel lymph nodes of malignant melanoma. *Acta Med Okayama* 2015;69:17–27. DOI: 10.18926/AMO/53118.
50. Bertolotto C., Lesueur F., Giuliano S. et al. A SUMOylation-defective MITF germline mutation predisposes to melanoma and renal carcinoma. *Nature* 2016;531(7592):126. DOI: 10.1038/nature16158.
51. Keshet G.I., Goldstein I., Itzhaki O. et al. MDR1 expression identifies human melanoma stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;368:930–6. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.02.022.
52. Touil Y., Zuliani T., Wolowczuk I. et al. the PI3K/AKT signaling pathway controls the quiescence of the low-Rhodamine123-retention cell compartment enriched for melanoma stem cell activity. *Stem Cells* 2013;31(4):641–51. DOI: 10.1002/stem.1333.
53. Czyz M., Koprowska K., Sztiller-Sikorska M. Parthenolide reduces the frequency of ABCB5-positive cells and clonogenic capacity of melanoma cells from anchorage independent melanospheres. *Cancer Biol Ther* 2013;14:135–45. DOI: 10.4161/cbt.22952.
54. El-Khattouti A., Sheehan N.T., Monico J. et al. CD133+ melanoma subpopulation acquired resistance to caffeic acid phenethyl ester-induced apoptosis is attributed to the elevated expression of ABCB5: significance for melanoma treatment. *Cancer Lett* 2015;357(1):83–104. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.10.043.
55. Грищенко Н.В. Гемопоэтические стволовые клетки. Интернаука 2018;11(15):93–100. [Grishchenko N.V. Hematopoietic stem cells. Internauka = International science 2018;11(15): 93–100. (In Russ.)].
56. Moriyama M., Osawa M., Mak S.S. et al. Notch signaling via Hes1 transcription factor maintains survival of melanoblasts and melanocyte stem cells. *J Cell Biol* 2006;173:333–9. DOI: 10.1083/jcb.200509084.
57. Титов К.С., Оганесян А.П., Ротин Д.Л. и др. Опухолевые стволовые клетки при раке молочной железы. Роль в патогенезе и подходы к терапии. Злокачественные опухоли 2016;2:22–7. DOI: 10.18027/2224-5057-2016-2-22-27. [Titov K.S., Oganessian A.P., Rotin D.L. et al. Tumor stem cells in breast cancer. The role in the pathogenesis and approaches to therapy. Zlokachestvennyye opukholi = Malignant tumors 2016;2:22–27 (In Russ.)].
58. Kaushik G., Venugopal A., Ramamoorthy P. et al. Honokiol inhibits melanoma stem cells by targeting notch signaling. *Mol Carcinog* 2015;54(12):1710–21. DOI: 10.1002/mc.22242.

Вклад авторов

С.В. Чулкова, И.Г. Маркина: написание текста статьи;

А.С. Антипова: получение данных для анализа;

О.А. Чернышева, Н.В. Грищенко, Д.А. Рябчиков, А.В. Егорова: обзор публикаций по теме статьи;

К.С. Титов: разработка плана, дизайна статьи;

Д.Р. Насхлеташвили: перевод, оформление статьи;

Н.Н. Тупицын: анализ рукописи.

Author's contributions

S.V. Chulkova, I.G. Markina: article writing;

A.S. Antipova: obtaining data for analysis;

O.A. Chernyshova, N.V. Grishchenko, D.A. Ryabchikov, A.V. Egorova: reviewing of publications of the article's theme;

K.S. Titov: developing of the plan and design of the article;

D.R. Naskhletashvili: translation and design of the article;

N.N. Tupitsyn: manuscript analysis.

ORCID авторов/ORCID of authors

С.В. Чулкова/S.V. Chulkova: <https://orcid.org/0000-0003-4412-5019>

Н.В. Грищенко/N.V. Grishchenko: <https://orcid.org/0000-0002-7515-8182>

Н.Н. Тупицын/N.N. Tupitsyn: <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

Д.А. Рябчиков/D.A. Ryabchikov: <https://orcid.org/0000-0003-2670-236>

К.С. Титов/K.S. Titov: <https://orcid.org/0000-0003-4460-9136>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 03.03.2019. Принята в печать: 23.04.2019.

Article received: 03.03.2019. Accepted for publication: 23.04.2019.