

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

УДК 616-006.81-018.29:576.3.017.22

А.А. Вартамян, М.В. Оборотова

ОСНОВНЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ СТЕЛОВОЙ КЛЕТКИ МЕЛАНОМЫ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Контактная информация

Вартамян Амалия Арташевна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ ЭДнТО

адрес: 115478 Москва, Каширское шоссе, 24; тел. +7(499)324-10-65

e-mail: zhivotov57@mail.ru

Статья поступила 10.03.2015, принята к печати 27.04.2015

Резюме

Меланома – чрезвычайно злокачественная опухоль. До недавнего времени предполагалось, что все клетки меланомы обладают одинаковой способностью инициировать опухоль и формировать метастазы. Сегодня достоверно показано, что такими свойствами обладает немногочисленная субпопуляция особых самообновляющихся клеток, называемых стволовыми. Эти клетки ответственны за все проявления процесса формирования опухоли, включая неоангиогенез и образование стромы. В обзоре будут обсуждены основные антигенные детерминанты стволовой клетки меланомы, а также подходы к терапевтическому воздействию на СКМ.

Ключевые слова: меланома, стволовая клетка опухоли, CD20, CD133, CD271, ABC B5, васкулогенная мимикрия.

A.A. Vartanian, M.V. Oborotova

BASIC DETERMINANTS OF MELANOMA STEM CELL

FSBSI «N.N. Blokhin RCRC», Moscow

Abstract

Melanoma is considered to be the deadliest form of skin cancer. For years it has been accepted that all melanoma cells in tumor are capable of tumor formation and each of them has the ability to initiate the metastasis. At present a stem cell theory of cancer has been developed, which purports that a subpopulation of self-renewing tumor cells is responsible for tumorigenesis, neoangiogenesis and stroma building. In this review we will discuss the basic determinants of melanoma stem cell and melanoma stem cell targeting implications.

Key words: melanoma, cancer stem cell, CD20, CD133, CD271, ABC B5, vasculogenic mimicry.

Введение

В последние десятилетия предприняты настойчивые попытки выявить наиболее типичные изменения наследственного аппарата клетки, которые приводят к злокачественному опухолевому перерождению и развитию различных видов рака. Основной целью при этом был поиск потенциальных мишеней, воздействуя на которые можно было бы добиваться подавления роста опухоли. Однако по мере получения и анализа этих результатов становилось ясно, что подобный подход к успеху не приведет. Оказалось, что набор генетических поломок индивидуален не только для каждой опухоли, но и для различных популяций клеток внутри одной опухоли. Более того, многие свойства и особенности злокачественных новообразований не поддаются объяснению одними только генетическими факторами. Фун-

даментальной проблемой в исследовании рака продолжала оставаться идентификация клеток, способных инициировать и поддерживать рост опухоли.

Для объяснения разнородного состава опухоли предложены две модели. Согласно первой, любая клетка злокачественной опухоли может инициировать новую опухоль или участвовать в формировании метастазов, а функциональная гетерогенность ассоциируется со случайными воздействиями: внутренними (связанными с транскрипционной активностью генома) или внешними (микроокружение клетки, иммунная система организма [40]). Согласно второй модели, опухоли формируются лишь из специальных опухолевых клеток. Эти клетки, по-видимому, появляются из нормальных стволовых клеток в результате злокачественной трансформации СК или их прямых потомков [9].

Возникновение мутаций в СК, их наследование клетками-родоначальницами, а также неадекватный ответ СК на внешние сигналы могут приводить к превращению здоровых СК в опухолевые. Клетки этого типа получили название «стволовые клетки опухоли» (СКО). Концепция СКО сводится к следующему: СКО – специфическая опухолевая клетка – долгоживущая и медленно пролиферирующая, способная при трансплантации иммунодефицитным животным инициировать рост опухоли, идентичной исходной, в то время как другие короткоживущие и более дифференцированные клетки опухоли этой способностью не обладают [7; 17; 28]. Именно с этих клеток начинается формирование злокачественной опухоли.

В отличие от более дифференцированных клеток основной опухолевой массы, которые относительно неплохо уничтожают существующие средства цитотоксической противоопухолевой терапии, СКО характеризует чрезвычайной терапевтической устойчивостью, которая в ответ на лечение только возрастает. Многие вопросы, на которые не было ответов, находят в рамках этой модели объяснение. Например, почему некоторые опухолевые клетки в одной и той же опухоли агрессивнее остальных? Почему некоторые клетки не восприимчивы ни к облучению, ни к химиотерапии? Модель СКО, то есть функциональной гетерогенности клеток опухоли, объясняет также процессы метастазирования. Сегодня уже достоверно известно, что предрасположенность опухоли к метастазированию заложена в геноме конкретной опухолевой клетки [54].

Многие из нас еще лет пять назад считали: если в процессе терапии удалось добиться значительного уменьшения размеров опухоли, это большой успех. Теперь мы знаем, что снижение размеров опухоли в результате лечения не столь уж и важно, гораздо важнее судьба СКО. Ибо, если они уцелели, то опухоль в ближайшее время "вернется".

В обзоре будут обсуждены основные антигенные детерминанты СКМ и возможности терапевтической интервенции, направленной на эту популяцию клеток.

Что такое стволовая клетка опухоли?

Как известно, в организме непрерывно идёт процесс отмирания клеток и их замещения новыми. В одних видах тканей продолжительность жизни клеток исчисляется месяцами, в других – днями. Источником новых клеток самых различных тканей служат СК. Основные биологические свойства СК:

1. СК образуют самоподдерживающуюся популяцию. Это означает, что при делении одни их потомки остаются стволовыми, а другие дифференцируются;
2. эти клетки могут неограниченное количество раз делиться и давать любое число поколений потомков в течение жизни данного организма;
3. потомки таких клеток могут дифференцироваться в разных направлениях [45].

В настоящее время различают три типа СК: эмбриональные, тканеспецифические и СКО. Уникальной особенностью всех типов СК является самоподдержание, вместе с тем, они сильно различаются по своей способности давать разные типы клеток-потомков. **Эмбриональные СК**, их также называют **тотипотентными**, обнаруживаются на самом раннем этапе эмбриогенеза во внутренней клеточной массе эмбриобласта [35; 59]. Эмбриобласт состоит из нескольких сотен клеток, способных образовывать клетки любого из эмбриональных зародышевых слоев трех типов – эктодермы, мезодермы и энтодермы. Начало собственно телу плода дает эмбриобласт. Эмбриональная СК находится на вершине иерархии, производя клетки всех типов, которые образует конкретный организм.

Тканеспецифические или **региональные** СК отличаются от эмбриональных тем, что их дифференцировка во многом ограничена конкретными органами. Тканеспецифические СК представлены в органах небольшой фракцией и характеризуются:

- способностью к самообновлению, то есть воспроизведению других СК с такой же способностью к пролиферации и дифференцировке, что обеспечивает сохранение пула СК;
- способностью к ассиметричному делению, приводящему к воспроизведению СК и образованию коммитированных к дифференцировке в нужном направлении дочерних клеток с ограниченной продолжительностью существования;
- способностью к регулированию соотношения процессов обновления СК и образования более дифференцированных клеток-потомков, восполняющих ткань в соответствии с конкретной ситуацией в ткани, например, в случае ее повреждения [31].

Строение и клеточная масса различных органов в норме поддерживаются присутствием тканевых СК, которые обеспечивают процессы постепенного обновления тканей и их регенерацию в случае повреждения. Следует отметить, что сегодня СК рассматривается как клетка, обладающая гораздо большей пластичностью, чем предполагалось ранее. Прежде всего, это положение относится к СК костного мозга. Гемопозитические СК костного мозга, например, способны дифференцироваться не только в различные клетки крови, но и в клетки некоторых других типов – нервные клетки, клетки печени, поджелудочной железы, миокарда, эпителиа, кожи и др. [3].

Стволовая клетка опухоли относится к третьему типу СК, именно такая клетка дает рост опухолевому клону. К этому выводу привели исследования последних лет [5; 16]. Выяснилось, что:

- в каждой опухоли присутствует лишь очень небольшая доля клеток, способных инициировать опухоль (0,01-1 % клеток опухоли);

- СКО каждой опухоли несет на своей поверхности определенные маркеры, характерные только для опухоли этого типа;
- опухоли, развивающиеся из СКО, содержат смешанную популяцию опухоль-инициирующих и не инициирующих клеток, соответствующую гетерогенному клеточному составу исходной опухоли.

Феномен существования СКО в опухоли сводится к следующему: СКО – это небольшая популяция клеток с неопределенно длительным пролиферативным потенциалом, которая отвечает за образование и рост опухоли. Вновь появившиеся опухолевые клетки могут утилизировать машину самоподдержания нормальных СК. И если нормальные СК обладают способностью точно изменять свое поведение в зависимости от сигналов окружения, СКО утрачивает чувствительность к внешним сигналам, регулирующим самоподдержание. И нормальная СК, и СКО обладают способностью к дифференцировке. В результате дифференцировки СК образуется нормальная зрелая клетка, СКО часто показывает ненормальную дифференцировку. Например, тератокарцинома содержит хрящевые и костные клетки, медуллобластома – клетки, напоминающие и нервные клетки, и глиальные клетки. Таким образом, для СКО характерно нарушение клеточного старения и дифференцировки. Так, СКО, практически никому неизвестная ещё каких-нибудь пятнадцать лет назад, сегодня оказалась в центре внимания. Оказалось, что буквально все проблемы клинической онкологии, начиная от возникновения МЛУ до появления рецидивов спустя десятилетия после кажущегося исцеления, связаны именно с ними.

Что это за клетки и откуда они берутся? Анализ литературы последних 10 лет указывает на три возможных пути появления СКО [53]:

1. Первый путь подразумевает образование СКО из тканевых СК в результате накопления мутаций.
2. Второй вариант допускает, что в прогениторной, или даже в дифференцированной клетке могут возникнуть онкогенные мутации, в результате которых клетка вновь приобретает способность к самообновлению.
3. Третий механизм связан с возможностью возникновения СКО в результате слияния СК с дифференцированной клеткой, с образованием гибридных клеток со свойствами СКО или способных становиться СКО в дальнейшем.

Последняя версия появилась совсем недавно [42]. Понятно, что мутации с одинаковой вероятностью могут возникнуть в стволовой, дифференцированной или гибридной клетке.

Далее объективно встают два вопроса, какие механизмы и какие особенности СКО позволяют им выживать, оставаясь невосприимчивыми к химиотерапии? Современная цитотоксическая химиотерапия направлена на гибель пролиферирующей

клетки, ДНК которой «открыта» и легко уязвима. СКО же делится крайне редко [22]. В СКО, также как и в нормальной СК, наблюдается конститутивная активация экспрессии сурвивина – анти-апоптотического белка – предохраняющая клетку от апоптоза [15]. Было также показано, что в СКО гиперактивирована система АВС-транспортёров, основная задача которых сводится к быстрому выведению из клетки различных опасных для неё веществ [1]. Это может частично объяснить резистентность таких клеток к классической химиотерапии, что вполне естественно, так как препарат просто не успевает подействовать. Есть основания полагать, что СКО, как и нормальные СК, обладают гораздо более совершенным механизмом репарации ДНК и намного эффективнее и быстрее восстанавливают свой наследственный материал [56]. Для СКО характерен также высокий уровень экспрессии антиоксидантных ферментов [68]. И когда мы говорим о бессмертии опухолевых клеток, то имеем в виду бессмертие этих самых СКО, потому что все другие клетки опухоли смертны. Становится понятно, почему даже видимое уменьшение размеров опухоли при лечении, как правило, не приводит к значительному увеличению продолжительности жизни пациента.

Концепция СКО объясняет также, почему стволовая клетка рака молочной железы ни при каких обстоятельствах не станет стволовой клеткой рака почки, а стволовая клетка рака простаты не станет таковой рака легкого и т.д. Наоборот, для опухоли характерна прогрессия с потерей степени специализации, но не переход одного злокачественного новообразования в другое.

Глубокий интерес вызывает другая особенность СКО. Известно, что разные виды рака имеют разную вероятность возникновения: рак молочной железы по статистике встречается в сотни раз чаще, чем опухоли системы кроветворения. Вплоть до самых последних лет подобное поведение опухолей объясняли влиянием образа жизни, экологии или же плохой наследственностью. То есть рак лёгких может чаще возникать из-за курения или, например, из-за того, что связанные с ним генетические аномалии лучше закрепляются в поколениях, чем в случае гемобластозов. Такая аргументация не объясняет до конца, почему в разных тканях злокачественные опухоли встречаются с разной вероятностью. Исследователи из Университета Джона Хопкинса (США) пришли к выводу, что, по-видимому, главный фактор, определяющий вероятность возникновения рака – это число делений тканевых СК [60]. Так, к двум известным факторам риска онкогенеза (компонентам внешней среды и врожденным мутациям) был добавлен третий – ошибки, возникающие в результате репликации генома СК. Важно отметить, что он может быть главным и при существенном влиянии первых двух факторов риска. Большинство обычных, дифференцированных клеток, составляющих основную массу ткани или органа, живут не слишком долго. Поэтому, даже если они накопят много потенциально онкогенных му-

таций, клетки погибнут раньше, чем успеют спровоцировать рак. СК, напротив, живут долго, много раз делятся и могут дать начало опухоли. Ткани организма постоянно обновляются благодаря резерву собственных СК: у крови они одни, у кишечного эпителия – другие, у кожи – третьи и т.д. Скорость деления у них отличается, отличается и число делений, которые СК претерпевает за свою жизнь. Чем больше клеточных делений осуществилось в популяции СК, тем больше вероятность того, что онкогенная мутация сработает в её потомках. Так, самые редкие опухоли возникают в костях головы, таза и предплечья – действительно, СК здесь самые неактивные. Чаще всего они делятся в базальном слое эпителия (за счёт базального слоя происходит обновление кожи), а также в слизистой толстой и прямой кишки – и опухоли в этих тканях относятся к самым распространённым. С. Tomaset и В. Vogelstein отмечают, что 65 % отличий между разными тканями относительно вероятности возникновения рака связаны с тем, что в одних тканях СК делятся чаще, чем в других, в оставшиеся 35 % входит наследственность (наследственность практически не влияет на 2/3 форм рака), и, конечно же, плохая экология и нездоровый образ жизни [61]. В 2006 году AACR ввела определение СКО, которая определяется как клетка, способная к самообновлению и поддерживающая гетерогенные популяции в опухоли («*Cancer stem cell is a cell within a tumor that possesses the capacity of self-renew and to cause the heterogenous lineages of cancer cells that comprise the tumor*») [6].

Ниша стволовой клетки опухоли

Для нормального функционирования СК абсолютно необходимы сигналы из ближайшего окружения, в первую очередь, для определения идентичности клетки и ее судьбы. *In vivo* СК остается стволовой только в соответствующем микроокружении (клетки-соседи, внеклеточный матрикс, лимфа, кровь) или, что мы называем нишей – совокупность клеточных и молекулярных событий в месте локализации СК [49]. Ниши СК создают микроокружение и контролируют локальные процессы пролиферации и дифференцировки СК путем интеграции сигналов, поступающих от соседних клеток стромы, от организма и внешней среды. Ниши создают систему сигналов и направляют специфичность дифференцировки СК в участке повреждения или естественной убыли клеток. Именно сюда мигрируют СК, здесь они активируются, пролиферируют и дифференцируются в клетки данной ткани. За редким исключением СК не покидают своей ниши и иногда бывают физически связаны с ней при участии молекул адгезии. СК, выделенные из самых разных источников, в условиях культивирования *in vitro* легко пролиферируют и дифференцируются. Складывается впечатление, что именно так они и запрограммированы, и только внешние сигналы, поступающие от ниши, держат их в «дремлющем» состоянии. По крайней мере, не исключена возможность, что СКО может возникать из тканевых

СК, в случае если ниша за ними «не уследила» [23], имея в виду ту роль, которую играет микроокружение для обычных СК в поддержании их в недифференцированном состоянии и в активации в ответ на поступление сигнала о необходимости появления новых клеток, предполагается, что подобного рода локальные внешние сигналы распоряжаются и судьбой СКО [43].

Ведь именно общие свойства СК и ряда опухолевых клеток позволили сформулировать концепцию СКО. Подтверждением контроля нишей судьбы СКО служат следующие эксперименты. Когда СКО помещали в новую нишу, они не всегда инициировали опухоль. И напротив, если нормальные СК трансплантировать в предварительно облученную ткань, опухоль будет развиваться [18]. СКО будет находиться под строгим контролем, осуществляемым нишей, до тех пор, пока не произойдут изменения в нише или возникнут мутации в СКО, вследствие которых утрачивается над ними контроль. Такие клетки не могут более адаптироваться к нише и покидают ее, покидают для формирования отдаленных метастазов. Становится понятным, что метастаз инициирует не СКО - «родоначальница», а ее мутированный аналог [32; 39]. В 2009 С. Klein предложил гипотезу параллельной прогрессии, когда процесс метастазирования начинается на самых ранних стадиях возникновения опухоли, а не в результате длительного накопления онкогенных мутаций отдельными клеточными клонами в первичной опухоли [27]. Показано, что злокачественная эпителиальная клетка сразу после фазы инициации опухоли способна активировать «молчащие» эмбриональные программы эпителиально-мезенхимального перехода, приобретать веретенообразную форму, дающую ей преимущество в подвижности, повышать инвазивный потенциал, проникать в системный кровоток, достигать пре-метастатической ниши в тканях отдаленного органа и формировать метастаз. Концепция ранней диссеминации позволяет объяснить наличие метастазов в опухоли без выявленной первичной локализации и отдаленных метастазов при ранних клинических стадиях рака ($T_{1-2}N_0M_1$).

Молекулярные детерминанты стволовой клетки меланомы

Меланома, симптомы которой проявляются у пациентов в любом возрасте – чрезвычайно злокачественная опухоль. Это уникальная опухоль, поскольку ее можно легко обнаружить на поверхности кожи, но вместе с тем весьма коварная. Отличают две фазы роста меланомы: горизонтальную и вертикальную [19; 47; 55].

- *Горизонтальная фаза развития* поверхностно-распространяющейся меланомы может длиться до 7 лет. В горизонтальной стадии рост опухоли происходит за счет проникновения клеток меланомы в нижние слои эпидермиса (базальный и шиповатый), где впоследствии они распространяются в горизонтальном направлении.

- *Вертикальная фаза роста* проявляется возвышением опухоли над поверхностью кожи и образованием в ней узлов. Вертикальную фазу роста характеризует проникновение клеток меланомы в поверхностные слои эпидермиса и инвазия через базальную мембрану в дерму и подкожную жировую клетчатку. Эту фазу развития характеризуют быстрый рост и склонность к метастазированию.

Легко поддающаяся лечению на ранних стадиях заболевания, меланома становится резистентной к противоопухолевой терапии при переходе в вертикальную фазу роста. Так, 5-летняя выживаемость отмечается в 97,9 % случаев, если толщина опухоли <0,76 мм, и снижается до 57,5 %, когда размеры опухоли >3 мм [2], и, хотя корреляция между толщиной опухоли и прогнозом течения болезни достаточно хорошо охарактеризована, фенотипическая характеристика клеток меланомы, участвующих в инициации опухоли, инвазии и формирования метастазов, еще только начинается.

Первое сообщение о существовании популяции СКМ появилось в 2005 году [12]. Авторы характеризовали такие клетки как не прикрепляющиеся к пластику и образующие сфероиды в процессе культивирования. После клонирования такие клетки способны к самообновлению и дифференцировались в адипоциты, хондроциты, остеобласты или меланоциты. Адгезивная фракция клеток из той же культуры клеток меланомы представляла собой веретено-подобный морфотип. Формирующие сфероиды клетки меланомы характеризовались высокой экспрессией CD20, известного как маркер В-лимфоцитов, и именно эта популяция клеток меланомы формировала опухоль у иммунодефицитных мышей.

Спустя два года появилось сообщение о получении из биопсийного материала больных меланомой популяции клеток меланомы CD133⁺ (маркер предшественников нейронов [37]). CD133 экспрессировали менее 1 % клеток меланомы, именно они отличались большим онкогенным потенциалом и при трансплантации NOD-SCID мышам инициировали опухоль. CD133⁺ клетки меланомы при длительном культивировании сохраняли экспрессию этого маркера и проявляли способность к дифференцировке в клетки мезенхимального и нейронального ряда. CD133⁺ клетки также формировали сфероиды *in vitro* и экспрессировали ангиогенные и лимфангиогенные маркеры. Несколько позже были получены статистически достоверные данные о положительной корреляции экспрессии CD133 в опухоли и прогрессии меланомы [46]. Совсем недавно появилась информация, что даун-регуляция CD133 в таких клетках малыми интерферирующими РНК заметно снижала рост ксенографта и способность к метастазированию [8].

В 2010 г. исследователи Стэнфордского университета из опухолевого материала больных диссеминированной меланомой получили популяцию CD271⁺ клеток меланомы, (рецептор NGF [4]). Да-

лее авторы трансплантировали CD271⁺ клетки меланомы иммунодефицитным мышам. Из пересаженных CD271⁺ клеток формировались полноценные меланомы, быстро растущие и быстро метастазирующие. Выделенные из экспериментальной опухоли CD271⁺ клетки сохраняли свои свойства и при трансплантации бестимусным мышам давали начало другим меланомам. Интересно отметить, что в CD271⁺ клетках меланомы была резко снижена экспрессия дифференцировочных антигенов *TYR*, *MART1* и *MAGEC1/MAGEC2* (на 86; 69 и 68 % соответственно [4]).

Несомненный интерес вызывают результаты об участии ABC-транспортёров в функционировании СКМ. Белки семейства АТФ-зависимых ABC-транспортёров в норме защищают клетку от экзогенных и эндогенных токсинов, участвуют в транспорте АТФ, стероидов, полипептидов. Высокая экспрессия ABC транспортёров в опухолевых клетках приводит к множественной лекарственной устойчивости, которая проявляется выбросом противоопухолевых лекарств из клетки, в результате чего происходит уменьшение уровня лекарства в клетке, необходимого для успешной терапии [24]. В лаборатории М. Frank из Бостона впервые показали, что в культуре клеток, полученных из образцов опухолевого материала больных меланомой, часть клеток несет на своей поверхности молекулы белка ABC B5 [13]. Высокий уровень экспрессии ABC B5 был характерен для клеток меланомы, полученных из "толстой" опухоли. Аналогичная корреляция наблюдается в поведении клеток, полученных из метастазов, а не из первичной опухоли. Подтверждение способности ABC B5⁺ клеток инициировать опухоль у бестимусных мышей было также получено в лаборатории М. Frank. Рост ксенографта заметно уменьшался, если мышам с меланомой вводили МКА к ABC B5 [13]. Таким образом, экспрессия ABC B5 на клетках меланомы служит еще одним свидетельством их принадлежности к СКМ.

В обзорах об СКМ, опубликованных в последние 2-3 года, высказано предположение, что популяция СКМ может быть гетерогенной и совсем не обязательно, чтобы все клетки популяции СКМ экспрессировали CD20, CD133, CD271 и ABC B5. Может наблюдаться разное сочетание экспрессии CD20, CD133, CD271 с экспрессией ABC B5 [29; 44]. Этот вывод наделяет популяцию СКМ уникальной пластичностью и отличает СКМ от СК других опухолей. Так, все клетки популяции стволовой клетки рака молочной железы экспрессируют CD44⁺/CD24⁻ или популяция стволовой клетки ММ состоит из клеток, экспрессирующих CD34⁺/CD38⁻, и т.д.

«Золотым стандартом» СКО продолжает оставаться их способность инициировать опухоль значительно меньшим количеством опухолевых клеток. Предполагается, что в культуре клеток, полученной из опухолевого материала больных раком, свойствами СКО обладает менее 1 % клеток новообразования. Это верно и для меланомы. Однако в последние годы появляются публикации о том, что опухоль инициировали 10 или даже 25 %

клеток меланомы, полученных из опухолевого материала [25]. Согласно определению AACR, СКО – популяция клеток, способных к самообновлению и дифференцировке. В определении не указано, что такой способностью во всех злокачественных новообразованиях должна обладать небольшая часть клеток. Высокий процент клеток, инициирующих экспериментальную меланому, говорит, скорее, о чрезвычайной злокачественности этой опухоли, чем представляет исключение из правила.

Васкулогенная мимикрия – другая функция СК меланомы?

Образование васкулярных каналов, ограниченных базальной мембраной, агрессивными опухолевыми клетками в отсутствие эндотелиальных клеток и фибробластов получило название ВМ. Рисунок васкулярной сети, сформулированной опухолевыми клетками, имитирует примитивную микроциркуляцию (*honey-comb-like network*) эмбриона [34].

На гистологических срезах ВМ представлена каналами между опухолевыми клетками, содержащими эритроциты и плазму. Эти каналы окрашиваются реактивом Шиффа – Periodic acid Schiff – в малиновый цвет (PAS⁺ структуры) и представляют собой микроциркуляторное русло в опухоли. Предполагается, что опухоль для выживания и прогрессии может индуцировать частичную трансдифференцировку опухолевых клеток в эндотелий-подобный фенотип, позволяющий формировать васкулярные каналы, необходимые для доставки питания и, возможно, метастазирования. Формирование сети каналов внутри опухоли может поддерживать гомеостаз и предотвратить ранний некроз внутри опухоли. ВМ присутствует практически во всех злокачественных новообразованиях. Ее наличие коррелирует с риском метастазирования и плохим клиническим прогнозом [41]. Интересно отметить, что, хотя опухолевые клетки, способные формировать каналы ВМ, экспрессируют гены, участвующие в ангиогенезе опухоли, ингибиторы ангиогенеза не блокируют формирование васкулярных каналов в опухоли [63].

Два независимых наблюдения привели нас к обсуждению вопроса об участии СКМ в ВМ.

Первое. Окраска гистологических срезов пимонидазолом (маркер гипоксии), показала, что микроокружение каналов ВМ в опухоли характеризуется глубокой гипоксией [57]. Гипоксия, как известно, – один из важных параметров, необходимых для поддержания недифференцированного статуса СК.

Второе. Анализ экспрессии генов с использованием ДНК-микрочипов показал, что клетки агрессивной меланомы, способные формировать васкулярные каналы, экспрессируют гены, характерные для поддержания полипотентного, эмбриональноподобного фенотипа, например, *Nodal*, *Notch* и *Wnt* [20].

С другой стороны, экспрессия меланоцит-специфических антигенов, таких как *Melan-A*, *MIFT*, *TYR* и *TYRP1*, снижена в 22; 34; 37 и 100 раз

в клетках меланомы, способных формировать васкулярные каналы [58]. Таким образом, сходство между СКМ и клетками меланомы, способными к вовлечению в ВМ по маркерам и сигнальным путям, позволяет предположить, что СКМ должна участвовать в формировании васкулярных каналов. На сегодняшний день мы смогли найти только одну публикацию об участии ABC B5⁺ клеток меланомы в формировании васкулярных каналов в меланоме [38]. Если эта гипотеза будет подтверждена и в других работах, можно будет говорить о новом пути терапии диссеминированной меланомы.

ВМ представлена неодинаково в разных типах опухолей. Так, в меланоме 60-62 % кровоснабжения осуществляется через каналы ВМ; при тройном негативном раке молочной железы – 50 %, при раке почки – 38-40 %, при саркоме мягких тканей – 35-37 %; при раке яичника 15-18 %; при раке толстой кишки – 10-12 % (наши неопубликованные данные). На фоне крайнего несовершенства циркуляции крови в опухоли каналы ВМ в количестве 10-12 % вряд ли что-то изменят, однако 60-62 % явно могут иметь существенное значение. В 2013 году FDA одобрила использование бевацизумаба для лечения метастатической меланомы и HER-2/Neu⁺ метастатического РМЖ. Привлекает внимание тот факт, что именно бевацизумаб – МКА к VEGF – был рекомендован в качестве антиангиогенного препарата, а не низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназного домена VEGFR2, число которых в клинике приближается к ста. Хотя в рекомендации не упоминается о возможном влиянии бевацизумаба на ВМ, мы предполагаем, что положительная динамика, наблюдаемая в процессе лечения бевацизумабом метастатической меланомы и HER-2/Neu⁺ метастатического РМЖ – опухолей, 50-60 % васкуляризации которых осуществляется через каналы ВМ – по крайней мере, частично связана с блокированием ВМ: ВМ также как и ангиогенез опухоли, находится под контролем VEGF [65], но не зависит от низкомолекулярных ингибиторов ангиогенеза.

Отсутствие тенденции к снижению смертности от онкологических заболеваний требует разработки новых высокоэффективных мишеней в опухолевых клетках. Интересным представляется подход, при котором, используя метод блокирования ВМ, можно будет уменьшить рост опухоли и формирование отдаленных метастазов.

Как СК меланомы уходит от иммунного надзора?

В клетках организма постоянно накапливаются мутации, которые отслеживаются системами контроля. Накопление в клетке некоторого критического количества мутаций, затрагивающих гены «стабильности», может привести к возникновению опухолевой клетки. В большинстве случаев иммунная система выявляет и уничтожает такие клетки, но злокачественные новообразования, тем не менее, появляются и, появившись, не регрессируют под действием иммунной системы.

Одной из главных причин ускользания опухоли от иммунологического надзора является отсутствие распознавания Т-лимфоцитами опухолевых клеток [30]. Данные о коммуникации СКМ с клетками иммунной системы появились совсем недавно. Показано, что одним из механизмов ухода СКМ от иммунного надзора может служить низкая экспрессия MART-1 – меланоцит-специфического антигена, который и узнают Т-клетки [51]. Аналогичная корреляция наблюдается и с экспрессией генов *NY-ESO-1*, *MAGE-1* в клетках меланомы, положительных по ABC B5 [4]. В образцах опухоли, положительных по CD271, снижена экспрессия *TYR*, *MART-1* и *MAGE* (C1-C2) [12]. Эти данные могут частично объяснить неэффективность CD8⁺ опухоль-реактивных Т-лимфоцитов в противоопухолевом ответе.

Другим механизмом, посредством которого СКМ уходит от надзора иммунной системы, являются изменения в экспрессии белков MHC Class 1. В норме эти белки присутствуют на поверхности всех клеток и представляют антигены CD8⁺ Т-лимфоцитам для активации адаптивного иммунного ответа [26]. Недавно показано, что в ABC B5⁺ клетках меланомы резко снижена экспрессия MHC Class 1 [64]. Понятно, что в отсутствие MHC Class 1 адаптивная иммунная система не может быть активирована, и опухоль будет прогрессировать.

Третьим возможным вариантом ухода от иммунного ответа может служить ингибирование в СКМ продукции IL-2, который является необходимым цитокином для активации и пролиферации Т-клеток [52]. Эффективность использования цитокинов при лечении злокачественной меланомы сегодня не вызывает сомнений. Становится очевидным, что прогрессирующая опухоль вызывает серьезные изменения в иммунном ответе, с которыми самостоятельно иммунная система справляться не может. Накопившиеся сведения о взаимоотношении СКМ и иммунной системы указывают: при разработке подходов к иммунотерапии меланомы коммуникация СКМ с иммунной системой должна учитываться.

Терапия, направленная на СК меланомы

Исследования последних лет привели нас к осознанию факта, что за развитие злокачественного процесса отвечает лишь крайне небольшое число СКО, способных давать начало опухолевому процессу, непрерывно пополняя популяцию клеток опухоли и регенерируя ее после удаления или разрушения большинства ее клеток. И хотя СКО в опухоли крайне мало, они представляют собой основную проблему с клинической точки зрения. В отличие от более дифференцированных клеток основной опухолевой массы, СКО характеризуются чрезвычайной терапевтической устойчивостью, которая в ответ на лечение только возрастает. Не уничтожив эту самую важную часть опухолевых клеток, мы не можем обсуждать возможности регрессии опухоли. Несмотря на то, что терапия, на-

правленная на СКО, только начинает развиваться, опубликован уже ряд работ с обнадеживающими результатами. Так было показано, что использование МКА к ABC B5 или нокадаун этого гена посредством малых интерферирующих РНК приводит к ингибированию роста опухоли в экспериментальной модели меланомы [10]. Более того, оба варианта лечения восстанавливали чувствительность опухоли к доксорубину и 5-фторурацилу, siRNA-нокадаун CD133 в экспериментальной опухоли также заметно снижал рост опухоли и способность к метастазированию [8].

На сегодняшний день мы слишком мало знаем о сигнальных путях, которые поддерживают жизнеспособность СКМ. Для СКО характерна активная экспрессия таких сигнальных молекул, которые участвуют в поддержании и дифференцировке эмбриональных СК, например, Nodal, Notch и Wnt [36; 62]. Известно, что высокая экспрессия Nodal необходима для поддержания дедифференцированного статуса клетки, в то время как низкий уровень этой сигнальной молекулы ассоциируется с активацией дифференцировки. Недавно было показано, что экспрессия Nodal повышена в клетках метастатической меланомы [33]. Ингибирование Nodal приводило к реверсии клеток меланомы в меланоциты.

Другой сигнальной системой, конститутивно активной в СК, является TGFβ/activin-путь. Активация BMP-4 – белка, участвующего в дифференцировке эмбриона на ранних стадиях – гаструляции и формирования мезодермы – находится под контролем TGFβ/activin-сигнального пути [69]. Об участии этого белка в прогрессии опухоли заговорили совсем недавно, когда BMP-4 был идентифицирован как важный медиатор инвазии и метастазирования [21]. Недавно показано, что экспрессия BMP-4 в клетках меланомы, положительных по CD133, значительно активирована по сравнению с клетками меланомы, отрицательными по этому маркеру [50]. Вызывает интерес тот факт, что и Nodal, и BMP-4 не только поддерживают плюрипотентность СК, но и участвуют в формировании васкулярных каналов опухолевыми клетками [11; 48]. На сегодняшний день не известно ни одного физиологического процесса – аналога ВМ – у взрослых или детей. Единственным примером ВМ, встречающимся у человека, является формирование цитотрофобластами васкулярных каналов в ходе эмбриогенеза в плаценте. Этот факт открывает новые возможности блокирования роста опухоли с минимальным эффектом на нормальные физиологические процессы. Как отмечено ранее, ингибиторы ангиогенеза не влияют ни на формирование, ни на разборку васкулярных каналов, сформированных опухолевыми клетками, и сегодня нечувствительность опухолей многих типов к антиангиогенной терапии объясняют появлением в опухоли васкулярной сети, сформированной ОК [67]. Обнадеживающей звучит идея достижения стабильного ответа на лечение больных метастатической меланомой посредством блокирования ВМ.

Воздействовать на ВМ можно тремя путями:

1. снизить пластичность ОК;
2. воздействовать на микроокружение ОК;
3. блокировать сигнальные пути, вовлекаемые в этот процесс.

В пользу жизнеспособности такого подхода косвенно указывают данные, опубликованные недавно. В ABC B5⁺ клетках меланомы экспрессия VEGFR1 была активирована значительно [14].

Недавно нами показано, что нокдаун гена VEGFR1 приводил к снижению роста экспериментальной опухоли и уменьшению числа метастазов в легкие [66].

Заключение

Меланома считается самой агрессивной опухолью кожи. Она быстро растет и быстро метастазирует. Теперь, когда мы приблизились к пониманию истинного происхождения меланомы, борьба с ней представляется крайне труднореализуемой. Эффективность существующей терапии оценивается способностью уменьшить размер опухоли. Но даже если мы отмечаем полную регрессию опухоли, всегда остается возможность ее повторного роста, потому что лечение было направлено на удаление основной популяции опухолевых клеток, а не СКМ.

Литература

1. Abdullah L.N., Chow E.K. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells // Clin. Transl. Med. – 2013. – 17. – P. 3–14.
2. Barnhill R.L., Fine J.A., Roush G.C. et al. Predicting five-year outcome for patients with cutaneous melanoma in a population-based study // Cancer. – 1996. – 78. – P. 427–32.
3. Becker M.W., Jordan C.T. Leukemia stem cells in 2010: current understanding and future directions // Blood Rev. – 2011. – 25(2). – P. 75–81.
4. 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. – P. 133–7.
5. Bu Y., Cao D. The origin of cancer stem cells // Front Biosci. – 2012. – 4. – P. 819–30.
6. Clarke M.F., Dick J.E., Dirks P.B. et al. Cancer stem cells – perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells // Cancer Res. – 2006. – 66. – P. 9339–44.
7. Dirks P. Cancer stem cells: invitation to a second round // Nature. – 2010. – 466. – P. 40–1.
8. Dou J., He X., Liu Y. et al. Effect of downregulation of ZEB1 on vimentin expression, tumour migration and tumorigenicity of melanoma B16F10 cells and CSCs // Cell Biol. Int. – 2014. – 38(4). – P. 452–61.
9. Eaves C.J. Cancer stem cells: here, there, everywhere? // Nature. – 2008. – 456. – P. 581–3.
10. Elliott A.M., Al-Hajj M.A. ABCB8 mediates doxorubicin resistance in melanoma cells by protecting the mitochondrial genome // Mol. Cancer Res. – 2009. – 7. – P. 79–87.
11. Fan T.Z., Sun W. Molecular regulation of vasculogenic mimicry in tumors and potential tumor-target therapy // World J. Gastrointest. Surg. – 2010. – 2. – P. 117–27.
12. Fang D., Nguyen T.K., Leishear K. et al. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas // Cancer Res. – 2005. – 65. – P. 9328–37.
13. Frank N.Y., Margaryan A., Huang Y. et al. ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma // Cancer Res. – 2005. – 65. – P. 4320–33.
14. Frank N.Y., Schatton T., Kim S. et al. VEGFR-1 expressed by malignant melanoma initiating cells is required for tumor growth // Cancer Res. – 2011. – 71. – P. 1474–85.
15. Fukuda S., Pelus L.M. Survivin, a cancer target with an emerging role in normal adult tissues // Mol. Cancer Ther. – 2006. – 5(5). – P. 1087–98.

Оптимистично звучит идея изменения диалога между СКМ и ее микроокружением. Таким путем СКМ лишатся условий, обеспечивающих их неуязвимость. Но мы не знаем, как устроены тканевые ниши для СКМ, и отличаются ли они от ниш нормальных СК.

Как блокировать пролиферацию СКМ, не вовлекая в пролиферацию нормальную СК? Возможно, удастся создать препараты, которые заставят СКМ интенсивно дифференцироваться и тем самым лишат их способности к самообновлению?

Но мы по-прежнему не знаем самого главного, распределена ли популяция СКМ равномерно в опухоли или локализована в каком-то определенном участке?

Одно из основных и кардинальных отличий меланомы от других типов злокачественных опухолей состоит в ее высокой иммуногенности. Но иммуногена ли СКМ? Как обучить клетки иммунной системы, чтобы они распознавали и уничтожали именно СКМ?

Имеющиеся на сегодняшний день знания не позволяют идентифицировать иммуногенные опухолевые антигены СКМ, отличные от антигенов нормальной СК. Почему иммунная система позволяет, чтобы меланома появлялась и развивалась до размеров, угрожающих жизни больного?

16. Fulawka L., Donizy P., Halon A. Cancer stem cells – the current status of an old concept: literature review and clinical approaches // *Biol. Res.* – 2014. – 47(1). – P. 66–75.
17. Greene J.M., Levy D., Fung K.L. et al. Modeling intrinsic heterogeneity and growth of cancer cells // *J. Theor. Biol.* – 2015. – 367. – P. 262–77.
18. Gupta T., Nair V., Jalali R. Stem cell niche irradiation in glioblastoma: providing a ray of hope? // *CNS Oncol.* – 2014. – 3(5). – P. 367–76.
19. Hsu M.Y., Meier F., Herlyn M. Melanoma development and progression: a conspiracy between tumor and host // *Differentiation.* – 2002. – 70. – P. 522–36.
20. <http://www.nhgri.nih.gov/DIR/microarray/MelanomaSupplement/index.html>.
21. Kallioniemi A. Bone morphogenetic protein 4-a fascinating regulator of cancer cell behavior // *Cancer Genet.* – 2012. – 205(6). – P. 267–77.
22. Kartal-Yandim M., Adan-Gokbulut A., Baran Y. Molecular mechanisms of drug resistance and its reversal in cancer // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2015. – 1. – P. 11–8.
23. Kasai T., Chen L., Mizutani A. et al. Cancer stem cells converted from pluripotent stem cells and the cancerous niche // *J Stem Cells Regen Med.* – 2014. – 10(1). – P. 2–7.
24. Kathawala R.J., Gupta P., Ashby C.R. et al. The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: a review of the past decade // *Drug Resist Updat.* – 2015. – 18. – P. 1–17.
25. Kelly P.N., Dakic A., Adams J.M. et al. Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells // *Science.* – 2007. – 317. – P. 337–45.
26. Khong H.T., Wang Q.J., Rosenberg S.A. Identification of multiple antigens recognized by tumor-infiltrating lymphocytes from a single patient: tumor escape by antigen loss and loss of MHC expression // *J. Immunother.* – 2004. – 27. – P. 184–90.
27. Klein C.A. Parallel progression of primary tumours and metastases // *Nat. Rev. Cancer.* – 2009 – 9(4). – P. 302–12.
28. Kreso A., Dick J.E. Evolution of the cancer stem cell model // *Cell Stem Cell.* – 2014. – 14(3). – P. 275–91.
29. Lang D., Mascarenhas J.B., Shea C.R. Melanocytes, melanocyte stem cells, and melanoma stem cells // *Clin. Dermatol.* – 2013. – 31(2). – P. 166–78.
30. Lee P.P., Yee C., Savage P.A. et al. Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients // *Nat. Med.* – 1999. – 5. – P. 677–85.
31. Li A. The biology of melanocyte and melanocyte stem cell // *Acta Biochim. Biophys. Sin.* – 2014. – 46(4). – P. 255–60.
32. Liao W.T., Ye Y.P., Deng Y.J. et al. Metastatic cancer stem cells: from the concept to therapeutics // *Am. J. Stem. Cells.* – 2014. – 3(2). – P. 46–62.
33. Lucero O.M., Dawson D.W., Moon R.T. et al. Are-evaluation of the "oncogenic" nature of Wnt/beta-catenin signaling in melanoma and other cancers // *Curr. Oncol. Rep.* – 2010. – 12(5). – P. 314–8.
34. Maniotis A.J., Folberg R., Hess A. et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry // *Am. J. Pathol.* – 1999. – 155(3). – P. 739–52.
35. Martello G., Smith A. The nature of embryonic stem cells // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2014. – 30. – P. 647–75.
36. McAllister J.C., Zhan Q., Weishaupt C. et al. The embryonic morphogen, Nodal, is associated with channel-like structures in human malignant melanoma xenografts // *J. Cutan. Pathol.* – 2010. – 37(Suppl 1). – P. 19–25.
37. Monzani E., Facchetti F., Galmozzi E. et al. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumorigenic potential // *Eur. J. Cancer.* – 2007. – 43. – P. 935–46.
38. Monzani E., La Porta C.A. Targeting cancer stem cells to modulate alternative vascularization mechanism // *Stem. Cell Rev.* – 2008. – 4. – P. 51–6.
39. Nguyen D.X., Bos P.D., Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization // *Nat. Rev. Cancer.* – 2009. – 9(4). – P. 274–84.
40. Nowel P.C. The clonal evolution of tumor cell population // *Science.* – 1976. – 194. – P. 23–8.
41. Paulis Y.W., Soetekouw P.M., Verheul H.M. et al. Signalling pathways in vasculogenic mimicry // *Biochim Biophys Acta.* – 2010. – 1806(1). – P. 18–28.
42. Pawelek J.M. Fusion of bone marrow-derived cells with cancer cells: metastasis as a secondary disease in cancer // *Chin. J. Cancer.* – 2014. – 33(3). – P. 133–9.
43. Plaks V., Kong N., Werb Z. The Cancer Stem Cell Niche: How Essential Is the Niche in Regulating Stemness of Tumor Cells? // *Cell Stem Cell.* – 2015. – 16(3). – P. 225–38.
44. Quintana E., Shackleton M., Foster H.R. et al. Phenotypic heterogeneity among tumorigenic melanoma cells from patients that is reversible and not hierarchically organized // *Cancer Cell.* – 2010. – 18. – P. 510–23.

45. *Ramalho-Santos M., Willenbring H.* On the origin of the term 'stem cell' // *Cell Stem Cell.* – 2007. – 1. – P. 35–8.
46. *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. – P. 3008–17.
47. *Regad T.* Molecular and cellular pathogenesis of melanoma initiation and progression // *Cell Mol Life Sci.* – 2013. – 70(21). – P. 4055–65.
48. *Rothhammer T., Bataille F., Spruss T. et al.* Functional implication of BMP4 expression on angiogenesis in malignant melanoma // *Oncogene.* – 2007. – 26. – P. 4158–70.
49. *Scadden D.T.* Nice neighborhood: emerging concepts of the stem cell niche // *Cell.* – 2014. – 157(1). – P. 41
50. *Schatton T., Murphy G.F., Frank N.Y. et al.* Identification of cells initiating human melanomas // *Nature.* – 2008. – 451. – P. 345–9.
51. *Schatton T., Frank M.H.* Antitumor immunity and cancer stem cells // *Ann NY Acad Sci.* – 2009. – 1176. – P. 154–69.
52. *Schatton T., Schutte U., Frank N.Y. et al.* Modulation of T-cell activation by malignant melanoma initiating cells // *Cancer Res.* – 2010. – 70. – P. 697–708.
53. *Sebastian C.* Tracking down the origin of cancer: metabolic reprogramming as a driver of stemness and tumorigenesis // *Crit. Rev. Oncog.* – 2014. – 19(5). – P. 363–82.
54. *Shiozawa Y., Nie B., Pienta K.J. et al.* Cancer stem cells and their role in metastasis // *Pharmacol Ther.* – 2013. – 138(2). – P. 285–93.
55. *Situm M., Buljan M., Kolić M. et al.* Melanoma--clinical, dermatoscopic, and histopathological morphological characteristics // *Acta Dermatovenereol Croat.* – 2014. – 1. – P. 1–12.
56. *Skvortsov S., Debbage P., Lukas P., Skvortsova I.* Crosstalk between DNA repair and cancer stem cell (CSC) associated intracellular pathways // *Semin. Cancer Biol.* – 2015. – 31. – P. 36–42.
57. *Sun B., Zhang D., Zhan S. et al.* Hypoxia influences vasculogenic mimicry channel formation and tumor invasion-related protein expression in melanoma // *Cancer.* – 2007. – 249. – P. 188–97.
58. *Takeuchi H., Kuo C., Morton D.L. et al.* Expression of differentiation melanoma-associated antigen genes is associated with favorable disease outcome in advanced-stage melanomas // *Cancer Res.* – 2003. – 63. – P. 441–48.
59. *Thomson J.A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S.S. et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // *Science.* – 1998. – 282. – P. 1145–7.
60. *Tomasetti C., Vogelstein B., Parmigiani G.* Half or more of the somatic mutations in cancers of self-renewing tissues originate prior to tumor initiation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – 110(6). – P. 1999–2004.
61. *Tomasetti C., Vogelstein B.* Cancer etiology. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions // *Science.* – 2015. – 347(6217). – P. 78–81.
62. *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. – P. 925–32.
63. *Van der Schaft D.W., Seftor R., Seftor E.A. et al.* Effect of angiogenesis inhibitors on vascular network formation by human endothelial and melanoma cells // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2004. – 96. – P. 1473–77.
64. *van Houdt I.S., Sluijter B.J., Moesbergen L.M. et al.* Favorable outcome in clinically stage II melanoma patients is associated with the presence of activated tumor infiltrating T-lymphocytes and preserved MHC class I antigen expression // *Int. J. Cancer.* – 2008. – 123. – P. 609–15.
65. *Vartanian A.A., Burova O.S., Stepanova E.V. et al.* The involvement of apoptosis in melanoma vasculogenic mimicry // *Melanoma Res.* – 2007. – 1. – P. 1–8.
66. *Vartanian A., Stepanova E., Grigorieva I. et al.* VEGFR1 and PKC α signaling control melanoma vasculogenic mimicry in a VEGFR2 kinase-independent manner // *Melanoma Res.* – 2011. – 21(2). – P. 91–8.
67. *Vartanian A., Gatsina G., Grigorieva I. et al.* The involvement of Notch signaling in melanoma vasculogenic mimicry // *Clin. Exp. Med.* – 2013. – 13(3). – P. 201–9.
68. *Wang K., Zhang T., Dong Q. et al.* Redox homeostasis: the linchpin in stem cell self-renewal and differentiation // *Cell Death Dis.* – 2013. – 4. – e537–e346.
69. *Watabe T., Miyazono K.* Roles of TGF-beta family signaling in stem cell renewal and differentiation // *Cell Res.* – 2009. – 19(1). – 103–15.