

ТЕРАПИЯ, НАПРАВЛЕННАЯ НА СТВОЛОВУЮ КЛЕТКУ ОПУХОЛИ: НАДЕЖДЫ И ВОЗМОЖНОСТИ

А.А. Вартамян, К.А. Барышников

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Амалия Арташевна Вартамян zhivotov57@mail.ru

Фундаментальной проблемой в лечении рака остается идентификация клеток, способных инициировать и поддерживать рост опухоли. До недавнего времени предполагалось, что все клетки опухоли обладают одинаковой способностью инициировать опухоль и формировать метастазы. Сегодня достоверно показано, что такими свойствами обладает небольшая популяция особых клеток, называемых стволовой клеткой опухоли (СКО). СКО — это специфическая опухолевая клетка, долгоживущая и медленно пролиферирующая, способная при трансплантации иммунодефицитным животным инициировать рост опухоли, идентичной исходной. СКО характеризуются чрезвычайной терапевтической устойчивостью, которая в ответ на лечение только возрастает. Регрессия опухоли и длительная ремиссия после лечения зависят от уничтожения этой самой важной части опухолевых клеток.

В обзоре обсуждаются пути возникновения опухоли, характерные особенности СКО, ее роль в метастазировании и терапия, направленная на СКО.

Ключевые слова: злокачественные новообразования, стволовая клетка опухоли, маркеры стволовой клетки, терапия стволовой клетки опухоли

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-8-17

THERAPIES TARGETING CANCER STEM CELLS OF THE TUMOR: THE ONE AND ONLY HOPE

A.A. Vartanian, K.A. Baryshnikov

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe shosse., Moscow, 115478, Russia

The basic problem in cancer treatment remains the identification of cells responsible for maintaining the whole population of cells in a tumor. For decades it has been considered that all transformed cells within a tumor have carcinogenic potential with unlimited proliferation capacity and metastases formation. At present, the concept of cancer stem cell was introduced indicating that tumor evolves from a small population of long-live and slow proliferating cells. These cells have the capacity to initiate the tumor formation in immunodeficient animals. Among their properties, resistance to standard oncology treatments leads to treatment failure and cancer recurrence. The management and eradication of different types cancer is completely depended on removal of this cell population.

Current review presents basic information about cancer stem cell, particularly, the initiation of tumor, the peculiar properties of cancer stem cell, the role of cancer stem cell in metastasis formation and discusses therapeutic strategies targeted cancer stem cell.

Key words: cancer stem cell, cancer stem cell markers, therapeutic strategies targeted cancer stem cells

Введение

До недавнего времени в онкологии господствовала теория онкогенеза и метастазирования опухолей, постулирующая клоногенность всех раковых клеток, т. е. способность любой клетки опухоли давать начало новой опухоли [1]. Однако к настоящему моменту уже появилось значительное количество доказательств альтернативной иерархической теории, утверждающей, что опухоли построены по тому же принципу, что и нормальная ткань, и включают опухолевые клетки различной степени дифференцировки. Согласно второй модели опухоли формируются

из специальных опухолевых клеток. Эти клетки, по-видимому, появляются из нормальных стволовых клеток (СК) в результате злокачественной трансформации СК или их прямых потомков. Возникновение мутаций в СК, их наследование клетками-родоначальниками, а также неадекватный ответ СК на внешние сигналы могут приводить к превращению здоровых СК в опухолевые. Этот тип клеток получил название «стволовые клетки опухоли» (СКО) [2]. Концепция СКО сводится к следующему: СКО — это 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. СКО характеризуются чрезвычайной терапевтической устойчивостью. Какой бы вид противоопухолевой терапии ни применялся (радио-, химио-, иммунотерапия, таргетная), СКО будут погибать последними, когда все дифференцированные раковые клетки уже успешно побеждены. Наличие такой чрезвычайной выживаемости СКО объясняет практически неминуемый рецидив заболевания на фоне успешной редукции солидных опухолей под воздействием современных форм химиотерапии. Предполагается, что СКО лежат в основе «дремлющих» опухолей, которые годами и даже десятилетиями после хирургической резекции или радио-/химиотерапии ждут, чтобы однажды возродить опухоль после того, как она когда-то была излечена [3]. Становится очевидным, что снижение размеров опухоли в результате лечения не столь уж и важно, гораздо важнее судьба СКО, потому что если они уцелели, то опухоль вернется в ближайшее время.

Возникновение опухоли: концепция стволовой клетки опухоли

Долгие годы возникновение злокачественной опухоли укладывалось в рамки стохастической теории канцерогенеза, суть которой сводилась к последовательному накоплению мутаций в соматических клетках организма, не передающихся по наследству. При случайном стечении обстоятельств, когда число мутаций становилось критическим, происходило злокачественное перерождение клетки. Согласно этой модели все клетки опухоли обладают одинаковой способностью инициировать опухоль и формировать метастазы. Настойчивые попытки выявить наиболее типичные изменения наследственного аппарата клетки с целью поиска потенциальных мишеней, воздействуя на которые можно было бы добиваться подавления роста опухоли, привели к осознанию факта, что набор генетических поломок индивидуален не только для каждого типа опухоли, но и для различных популяций клеток внутри одной опухоли. Не укладывалось в эту теорию и возникновение рака в первые годы жизни, у детей. Фундаментальной проблемой в исследовании рака продолжала оставаться идентификация клеток, способных инициировать и поддерживать рост опухоли. По мере накопления и анализа многочисленных случаев лечения пациентов со злокачественными новообразованиями методами химио-, радио- и таргетной терапии, направленной на уничтожение пролиферирующих клеток опухоли, становилось ясно, что, хотя выбранные стратегии казались перспективными и состояние

некоторых больных улучшалось, в какой-то момент болезнь неизбежно возвращалась. Подобное поведение опухоли можно было объяснить, предположив, что, для того чтобы выживать и приспосабливаться к постоянно меняющимся условиям, опухолевым клеткам необходимы свойства СК. Это и бессмертие, и способность к самообновлению, и способность формировать разные популяции родственных, но отличающихся друг от друга опухолевых клеток. Будучи истинно СК, они (и только они) будут способны к неограниченному числу делений и постоянному самовоспроизведению. Поскольку любое новообразование развивается только из активно делящейся клетки, наиболее подходящие кандидаты для злокачественной трансформации – нормальные тканевые СК, так как они характеризуются длительным сроком жизни и высокой скоростью деления. Этот тип клеток получил название СКО. Оказалось, что буквально все проблемы в клинической онкологии, начиная от возникновения множественной лекарственной устойчивости до появления рецидивов спустя десятилетия после кажущегося исцеления, связаны именно с этими клетками. Многие вопросы, на которые не было ответа долгие годы, сегодня находят объяснение в рамках этой модели. Так, концепция СКО объясняет, почему СК рака молочной железы ни при каких обстоятельствах не станет СК рака почки, СК рака предстательной железы не станет СК рака легкого и т. д., и наоборот. Концепция СКО объясняет также, почему в разных тканях злокачественные опухоли встречаются с разной вероятностью. Большинство дифференцированных клеток, составляющих основную массу ткани или органа, живут не слишком долго. Поэтому, даже если они накопят много потенциально онкогенных мутаций, клетка погибнет раньше, чем успеет спровоцировать рак. СК, напротив, живут долго, много раз делятся и могут дать начало опухоли. Чем больше клеточных делений осуществилось в популяции СК, тем больше вероятность того, что онкогенная мутация сработает в ее потомках. Так, самые редкие опухоли возникают в костях головы, таза и предплечья – и действительно, СК здесь самые неактивные. Чаще всего они делятся в базальном слое эпителия (за счет базального слоя происходит обновление кожи), а также в толстой и прямой кишке – опухоли в этих тканях относятся к самым распространенным [4]. Концепция СКО также хорошо согласуется с общепринятым фактом, что хронические, нелеченные воспалительные процессы часто переходят в рак [5]. В очаге хронического разрушения, как правило, происходит усиленная регенерация поврежденных тканей, и эту функцию выполняет тканевая СК. На каком-то этапе в программе СК может произойти сбой, и СК превращается в СКО.

Возникновение СКО из тканевой СК — не единственный способ появления СКО. При определенных условиях терминально дифференцированная клетка может дедифференцироваться до СК. В 2012 г. Нобелевская премия была присуждена британцу Джону Гердону из кембриджского Гердоновского института и японцу Синъя Яманака из Университета Киото за открытие возможности перепрограммирования дифференцированных клеток в плюрипотентные [6]. С учетом повышенной гипоксии и закисленности опухоли, недостаточного поступления питания из-за далеко не совершенной системы кровоснабжения опухоли подобная дедифференцировка опухолевой клетки в СКО не кажется такой уж невозможной. По всей видимости, такое поведение опухолевой клетки является еще одной составляющей, увеличивающей число СКО в опухоли.

Гистологические наблюдения за одной из опухолей мозга — медуллобластомой — показали, что ее клетки морфологически очень напоминают клетки эмбрионального мозжечка, на основании чего было выдвинуто предположение, что эта форма опухолей мозга развивается из зародышевого остатка, состоящего из медуллобластов, утративших способность к дифференцировке [7]. Так была выдвинута гипотеза о том, что эмбриональные СК могут находиться в тканях взрослых людей, сохраняя способность к канцерогенезу в случае их соответствующей стимуляции. На ранней стадии развития эмбриона клетки взаимозаменяемы и очень быстро делятся. После какого-то количества делений клетки могут возникнуть трудности в достижении терминальных стадий дифференцировки, что приведет к увеличению вероятности их малигнизации. Одним из подтверждений вышесказанного является экспрессия раково-эмбриональных антигенов опухолевыми клетками [8].

В 2006 г. American Association for Cancer Research (AACR) ввела следующее определение СКО: «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) [9].

Как отмечалось выше, основной характерный признак СКО — способность инициировать опухоль значительно меньшим количеством опухолевых клеток. Однако некоторые новообразования, отличающиеся экстремальной злокачественностью, например различные злокачественные меланомы, при которых доля активно делящихся опухолевых клеток приближается к половине опухолевой массы, могут содержать 10 или даже 25 % СК, инициирующих опухоль. Более того, фенотип этих СКО может быть различным [10].

На сегодняшний день СКО описаны практически для всех типов онкологических заболеваний. Для

СКО меланомы характерен фенотип CD20⁺, CD133⁺, CD271⁺, ABC B5⁺; для СКО рака мозга — CD133⁺; рака легкого — CD44⁺, CD133⁺; рака поджелудочной железы — CD24⁺, CD44⁺, ESA⁺; рака молочной железы — CD44⁺, CD24⁺; рака головы и шеи — CD24⁺, CD44⁺, ESA⁺; рака желудка — CD44⁺; рака печени — CD24⁺, CD44⁺, CD90⁺, CD133⁺, ESA⁺; рака толстой кишки — CD24⁺, CD44⁺, CD133⁺, CD166⁺, ESA⁺; для СК лейкоза — CD34⁺, CD38⁺, CD47⁺, CD96⁺ [11].

Хотя анализ экспрессии поверхностных маркеров позволяет охарактеризовать популяцию клеток, ответственных за инициацию конкретной опухоли, картина, которую наблюдают клиницисты, может не всегда согласоваться с этой концепцией. Например, при меланоме популяция СК меланомы может быть гетерогенной, и совсем необязательно, чтобы все клетки популяции СК меланомы экспрессировали CD20, CD133, CD271. Может наблюдаться разное сочетание экспрессии CD20, CD133 или CD271.

Стволовая клетка опухоли и метастазирование

По мере развития (и в особенности под воздействием радио- и химиотерапии) в первичной опухоли происходит генерация «вторичных» СКО. Скорее всего, эти частично дифференцированные «вторичные» СКО и участвуют в метастазировании. По мере прогрессии, особенно под воздействием различных средств терапии, численность «вторичных» СКО возрастает. Качественные характеристики метастатических СКО, отличающие их от «первичной» СКО, во многом неясны. Новые методы исследований позволили обнаружить, что к образованию метастазов способно не более 10 % циркулирующих в кровотоке опухолевых клеток [12]. Вероятно, большая часть диссеминированных опухолевых клеток стареет или уходит в апоптоз, и лишь доли процента таких клеток образуют вторичные опухоли, снабженные сосудистой сетью. Следует отметить, что частота переключения фенотипа с инвазивного на пролиферативный (phenotype switching) крайне низка, что объясняет ремиссию ряда злокачественных заболеваний в течение длительного времени [13]. И это, возможно, является одной из причин, почему у многих пациентов наблюдается огромное число микрометастаз, не развившихся до состояния макрометастазирующих опухолей.

Недавно было обнаружено, что метастатические клетки экспрессируют специфические гены, которые, вероятно, держат их в «дремлющем», недифференцированном состоянии и делают неуязвимыми для иммунитета. Так, было установлено, что в меланоме активация гена *NEDD9* напрямую связана с метастатическим потенциалом клетки [14]. Другим заметным событием в метастазировании является амплификация хромосомы 6 [15]. Повышение числа копий

хромосомы 6 наблюдается более чем в 35 % метастатических меланом, и это связано с плохим прогнозом. Таким образом, оказалось, что различные клетки опухоли обладают резко отличающимися способностями проникновения в крово- и лимфоток и иницирования метастазов. Иными словами, генетическая программа, которая заставляет клетки метастазировать, не зависит от генетики родительской СКО. Не существует также зависимости метастазирования от размеров опухоли: некоторые опухоли, первичный узел которых бывает еле виден, дают обширные метастазы по всему организму. В то же время ряд опухолей (например, базалиома) метастазов не дает [16]. Новые высокоэффективные противоопухолевые препараты заметно сокращают объем первичной опухоли, но большинство этих препаратов не работает против метастазов.

Почему стволовая клетка опухоли резистентна к стандартной терапии?

По мере получения и анализа экспериментальных данных о прогрессии опухоли становилось ясно, что характерная для нормальных СК иерархическая организация имеет место и в популяции клеток любой опухоли. Более того, СКО сохраняют многие свойства нормальных СК, в том числе те, которые делают СК устойчивой к внешним воздействиям. В настоящее время устойчивость самых разных опухолей к терапии в значительной мере объясняют гиперэкспрессией АВС-транспортёров [17].

Белки семейства АТФ-зависимых АВС-транспортёров в норме защищают клетку от экзогенных и эндогенных токсинов, участвуют в транспорте АТФ, стероидов, полипептидов [18]. Устойчивость самых разных опухолей к терапии в значительной мере определяется тем, что СКО сохраняют присущую нормальным СК экспрессию АВС-транспортёров. Повышение уровня АВС-транспортёров в СКО способствует быстрому выведению из клетки различных опасных для нее веществ, в том числе и противоопухолевых препаратов, необходимых для успешной терапии. Так, было показано, что блокада АВС В5 моноклональными антителами или нокдаун этого гена посредством малых интерферирующих РНК приводили к ингибированию роста опухоли в экспериментальной модели меланомы, восстанавливали чувствительность опухоли к доксорубину и 5-фторурацилу и заметно снижали способность к метастазированию [19].

Второй механизм терапевтической устойчивости СКО связывают с повышенной экспрессией фермента альдегиддегидрогеназы. В норме функция этого белка — окисление токсичных для организма альдегидов до карбоновых кислот. В СКО он инактивирует многие противоопухолевые препараты [20].

В исследованиях последних лет неоднократно было показано, что ионизирующее излучение приводит к гибели основной массы опухолевых клеток, вызывая двухцепочечные разрывы в ДНК. Однако СКО сохраняет жизнеспособность благодаря повышению активности процессов репарации, и исход вызванного облучением повреждения ДНК в СКО смещен к выживанию в СКО, тогда как нестволовые опухолевые клетки подвергаются апоптозу. Более того, опухоли, подвергшиеся ионизирующей радиации, показывают значительное увеличение СКО [21].

СКО отличаются экстремальной устойчивостью к апоптозу. Именно поэтому СКО не погибают, например, после тяжелого ионизирующего облучения или высокодозной цитотоксической терапии, вместо этого они активизируют восстановление повреждений ДНК и через какое-то время вновь приобретают способность к делению [22]. Более того, как было показано совсем недавно, даже в тех случаях, когда удается добиться апоптоза СКО, эти клетки при определенных условиях способны к обратной «самосборке» с полным восстановлением функций и усилением злокачественности [23]. В тех же случаях, когда системы резистентности к терапии дают сбой, СКО переходят в статус «дремлющей» (dormant) клетки, в котором они могут находиться длительно — от нескольких лет до десятилетий, после чего способны активироваться и обуславливать рецидив. «Дремлющие» СКО отличаются низким уровнем метаболизма, повышенной устойчивостью к цитотоксической терапии и практически не экспрессируют поверхностные антигены, которые могли бы послужить мишенями для создания таргетных препаратов. На сегодняшний день «дремлющие» СК представляют наибольшую трудность в лечении онкологических больных. Еще одним фактором, заставляющим СКО перейти в состояние обратимого покоя («дремлющая»), является дефицит питательных веществ, индуцирующий интенсивную аутофагию [24]. Подобные клетки способны выйти из этого состояния и продолжить активный рост и пролиферацию при изменении тканевого микроокружения, например при появлении доступа к питательным веществам.

Другой особенностью СКО является устойчивость к окислительному стрессу [25]. Известно, что в ходе нормального метаболизма в клетке постоянно образуются активные формы кислорода. Нарушение баланса между количеством образующихся свободных радикалов и способностью антиоксидантной системы клетки нейтрализовать их может привести к возникновению окислительного стресса в клетке, который сопровождается повреждением макромолекул и запуском апоптотических процессов. В последние годы пристальное внимание уделяется способности активных форм кислорода выполнять функции

мутагенов и стимулировать дифференцировку СК [26]. Тканевая СК обладает довольно высокой устойчивостью к окислительному стрессу вследствие увеличенной экспрессии ряда антиоксидантных ферментов по сравнению с дифференцированными клетками. Оказалось, что подобными свойствами обладает и СКО: для реализации способности к самообновлению СКО поддерживает низкий уровень активных форм кислорода, что достигается благодаря высокой антиоксидантной энзиматической активности, небольшому числу митохондрий в клетках и низкому уровню потребления кислорода. Таким образом, чрезвычайная выживаемость СКО объясняется сохранением СКО многих свойств, присущих нормальным СК, — это большая продолжительность жизни в состоянии покоя, экспрессия ABC-транспортёров, устойчивость к апоптозу, высокий уровень антиоксидантных ферментов, конститутивно активная аутофагия.

Терапия, направленная на стволовую клетку опухоли

Если предположить, 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, то СКО может являться весьма перспективной мишенью терапевтического воздействия.

В настоящее время клинические испытания идут в нескольких направлениях в зависимости от терапии. Она может быть направлена:

- на микроокружение опухоли,
- блокаду эмбриональных сигнальных систем,
- блокаду ABC-транспортёров,
- индукцию апоптоза в СКО,
- дифференцировку СКО.

Терапия, направленная на микроокружение опухоли

Внимание исследователей на протяжении десятилетий было сфокусировано на мутациях внутри клетки, и только в последние годы стали рассматриваться вопросы, каким образом мутированные клетки могут взаимодействовать с находящимися рядом с ними клетками. Опухоли — нечто большее, чем просто пролиферирующие опухолевые клетки. Это сложные ткани, состоящие из многих различных клеточных типов, участвующих в гетеротипических взаимодействиях друг с другом. Сигнальные взаимодействия между опухолевыми клетками и их стромой развиваются в ходе всего многоуровневого становления опухоли. Микроокружение СКО очень разнообразно. В него входят фибробласты, мезенхимальные клетки, адипоциты, макрофаги, кровеносные сосуды, внеклеточный матрикс и сигнальные молекулы.

Эти сигнальные молекулы не только поступают извне, но и секретируются самими опухолевыми клетками. Например, они выделяют фактор роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor, VEGF), воздействующий на соседние эндотелиальные клетки, и запускают рост новых сосудов. Диалог между микроокружением и СКО при некоторых условиях может способствовать прогрессии опухоли, влияя на ее агрессивность и способность диссеминироваться по всему организму. Все больше подтверждений находит идея о том, что именно неспособность нормальной СК адекватно взаимодействовать со своим окружением приводит к перерождению ее в СКО [27].

Недавно было показано, что практически во всех СК рака молочной железы активен ген хемокинового рецептора — CXCR4 [28, 29]. Были получены убедительные данные, свидетельствующие в пользу того, что взаимодействие между СКО и стромой осуществляется посредством активации SDF-1 α /CXCR4 сигнального пути, и если лишить СКО этой возможности, то можно предотвратить дальнейшее ее распространение и рецидив злокачественного новообразования. Следует отметить, что высокая экспрессия этого рецептора наблюдается также в нормальных СК, нейронах, эндотелиальных клетках. Связывание хемокина с рецептором в норме обеспечивает миграцию, инвазию и пролиферацию клеток [30, 31]. Следующим этапом исследования в этой области стало создание низкомолекулярных ингибиторов и антител к CXCR4. Доклинические исследования AMD3100 (Plerixafor), моноклональных антител к CXCR4, показали, что AMD3100 ингибировал рост клеток при остром лимфобластном лейкозе, а также снижал рост глиобластомы [32, 33]. При этом AMD3100 не влиял на общую выживаемость животных с экспериментальным метастатическим мелкоклеточным раком легкого. STCE-9908, другой антагонист CXCR4, снижал объем опухоли и появление метастазов у больных эзофагальной карциномой [34] и ингибировал появление метастазов при раке предстательной железы [35].

NOX-A12, наиболее изученный блокатор хемотаксиса, индуцированный SDF-1 α , вызывал повышение хемочувствительности опухолевых клеток к цитотоксическому лечению при хроническом лимфобластном лейкозе [36].

Ангиогенез опухоли, формирование кровеносных сосудов в опухоли на основе уже существующих в ткани сосудов, является необходимым условием для роста опухоли. За последние годы более 40 антиангиогенных препаратов прошли II и III фазы клинических испытаний, и некоторые из них при комбинировании с химиотерапией способствовали регрессии опухоли, уменьшая плотность сосудов в опухоли [37]. Следует отметить, что микроокружение СКО — это

не только различные типы клеток, участвующие в гетеротипических взаимодействиях друг с другом и с СКО, но также глубокая гипоксия. Антиангиогенная терапия опухоли, снижая доставку питания в опухолевую ткань, вместе с тем снижает также поступление кислорода в опухоль и тем самым повышает гипоксию в опухоли, создавая идеальные условия для выживаемости СКО. Об этом в одном из своих последних интервью в 1980 годах предупреждал Дж. Фолкман — основоположник антиангиогенной терапии опухолей.

Другой потенциальной мишенью, связанной со стромой опухоли, является повышенный внеклеточный pH. Было показано, что бикарбонат натрия способен тормозить переход опухоли из статуса *in situ* в инвазивный рост [38].

Чрезвычайно важно не забывать, что существующие терапевтические подходы, направленные на стро-му, не являются специфическими для СКО, они модифицируют также микроокружение нормальной СК. Понимание динамического равновесия СКО/строма, возможно, станет ключевым для развития новых стратегий, направленных на уничтожение СКО.

Терапия, направленная на блокаду эмбриональных сигнальных путей

Одним из важных открытий фундаментальной онкологии последних лет является обнаружение факта, что онкогенез и эмбриогенез используют одни и те же сигнальные пути, которые участвуют в регулировании процессов пролиферации клеток при органогенезе. В динамике развития эмбриона регуляция многих процессов осуществляется с участием сигнальных путей Notch, Hedgehog и Wnt/ β -catenin. Их активация в СК или реактивация в дифференцированных клетках лежит в основе многих типов рака.

Из 3 сигнальных путей наиболее изучен сигнальный путь Notch. В процессе эмбриогенеза Notch контролирует становление билатеральной симметрии. Этот высоко консервативный внутриклеточный сигнальный путь активируется при взаимодействии трансмембранных лигандов семейств Jagged (Jagged 1 и 2) и Delta (Delta-like 1, 3 и 4) с рецепторами Notch (Notch1–4). После связывания с лигандом активация рецептора Notch происходит за счет протеолитического действия γ -секретазы путем высвобождения внутриклеточного домена, который мигрирует в ядро и, образуя комплекс с ДНК, выполняет функцию транскрипционного регулятора экспрессии ряда генов [39]. Накоплен большой клинический материал, указывающий, что активация сигнального пути Notch способствует становлению глиомы, рака молочной железы, панкреатической железы, колоректального рака, меланомы, рака легких, различных онкогематологических заболеваний [40]. Активация сигнального

пути Notch служит также триггером для прогрессии опухоли в более агрессивный фенотип. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что блокирование сигнального пути Notch ингибиторами γ -секретазы приводило к снижению роста опухоли, индукции апоптоза, даун-регуляции ММП-2 и 9 и, как результат, снижало метастазирование [41, 42]. При блокаде сигнального пути Notch с помощью ингибиторов γ -секретазы в опухолевых клетках рака мозга было обнаружено снижение доли CD133-положительных клеток (СКО) в 5 раз. Уровень апоптоза был также выше — почти в 10 раз [42]. Продолжаются клинические испытания с антителами к DLL-4 и Notch-1 [43].

Другим эмбриональным сигнальным путем является сигнальная система Hedgehog (Hh). У взрослых активность сигнального пути Hh сильно снижена по сравнению со стадией эмбрионального и неонатального развития и обнаруживается лишь в СК нейронов центральной нервной системы и в эпителии кишечника, но этот сигнальный путь гиперактивирован при глиобластоме, раке молочной железы, поджелудочной железы, множественной миеломе и хроническом миелолейкозе [44]. Кроме того, сигнальный путь Hh вовлекается в эпителиально-мезенхимальный переход и поддержание жизнеспособности СКО [45]. Эти данные заставили искать для лечения таких опухолей низкомолекулярные ингибиторы сигнальной системы Hh. Наиболее известный препарат, ингибирующий систему Hh, — циклопамин (Cyclopamine) — был получен из полевого выюнка. Препарат ингибировал сигнальный путь Hh *in vitro* и обладал противоопухолевой активностью при базально-клеточной карциноме (результаты II фазы испытаний) [46]. На стадии клинических исследований I и II фазы находятся низкомолекулярные ингибиторы сигнального пути Hh висмодегиб (Vismodegib), BMS-833923, саридегиб (Saridegib, IPI-926), PF-04449913, LY2940680, LEQ 506 и TAK-441 [47]. Предварительные данные указывают на противоопухолевую активность препаратов в режиме монотерапии при медуллобластоме, опухолях головного мозга и раке предстательной железы.

До последнего времени не было сведений об участии сигнального пути Wnt/ β -catenin в поддержании жизнеспособности СКО. Первым экспериментальным подтверждением представлений о том, что контроль процессов самообновления и дифференцировки СКО находится под контролем Wnt/ β -catenin сигнального пути, явилась работа B.Y. Liu и соавт. [48]. Этот сигнальный путь, как оказалось, deregулирован при лейкозах, раке толстой кишки, раке молочной железы, меланоме [49]. Ингибиторы Wnt/ β -catenin сигнального пути включают низкомолекулярные ингибиторы (нестероидные противовоспалительные препараты, аспирин, производные витамина А и Д,

индометацин) и биологические ингибиторы (моноклональные антитела, малые интерферирующие РНК, рекомбинантные белки). Предварительные клинические исследования указывают на то, что моноклональные антитела OMP-54F28 и OMP-18R5 снижают популяцию СКО при раке легкого, раке молочной железы, раке поджелудочной железы [49].

Все 3 эмбриональных сигнальных пути, которые могут быть реактивированы при различных злокачественных заболеваниях, содержат большое число белков, участвующих в сложно регулируемых системах передачи сигналов в ядро клетки. Как показали результаты предварительных клинических испытаний, блокирование эмбриональных сигнальных путей на фоне краткосрочного улучшения состояния больного вызывало сильные побочные эффекты.

Терапия, направленная на ABC-транспортёры

Инициация и поддержание роста опухоли — не единственные функции СКО. С этой популяцией клеток связывают также низкую эффективность терапии. Одним из основных механизмов резистентности СКО к терапии является повышенный уровень экспрессии ABC-транспортёров. Эти белки локализованы преимущественно в плазматической мембране клетки и отвечают за транспорт полезных веществ в клетку и выведение из нее токсичных метаболитов и ксенобиотиков [50, 51]. Идея терапии, направленной на ABC-транспортёры, сводится в настоящее время к следующему: ингибиторы ABC-транспортёров выступают как соединения, повышающие чувствительность СКО к циторедуктивной терапии. Первое поколение ингибиторов ABC-транспортёров было направлено на интоксикацию ABC B1 или р-гликопротеин. В эту группу соединений входили блокатор кальциевых каналов верапамил, иммуносупрессор циклоспорин А и антиэстроген тамоксифен. Следует отметить, что эффективность этих препаратов была невысокой и наблюдались выраженные побочные эффекты [52]. Второе поколение ингибиторов ABC-транспортёров: Elacridar (GF120918), Dofequidar (MS-209), Valspodar (PSC833), Biricodar (INCEL, VX-710) и Timcodar (VX-853) — были менее токсичны, чем ингибиторы первого поколения, однако также наблюдалось неселективное блокирование ABC-транспортёров других клеток [53]. Третье поколение — Zosuquidar (LY335979), OC144093 (ONT-093), Laniquidar (R101933) и Tariquidar (XR-9576) — более селективные ингибиторы ABC B1, ABC C1, ABC G2 [53]. Эти препараты находятся на разных стадиях клинических испытаний.

Следует отметить, что экспрессия ABC-транспортёров характерна и для нормальных клеток. Например, ABC B1 в норме обнаруживается в почках, надпочечниках, капиллярах мозга и плаценте, а ABC

G2 — в протоках молочных желез, гематопоетических СК и гематоэнцефалическом барьере [54]. Отличие лишь в том, что в СКО активность этих белков и уровень их экспрессии значительно выше, чем в норме. И многие исследователи рекомендуют с осторожностью подходить к этому виду терапии.

Терапия, направленная на индукцию апоптоза

Программированная гибель клеток представляет собой активный механизм клеточной гибели. Апоптоз вызывается как физиологическими сигналами (специфическими «киллерными» цитокинами), так и различными внутриклеточными повреждениями, в частности нарушениями структуры ДНК, нехваткой факторов роста, гипоксией, действием радиации, ультрафиолетового излучения и т. д. Экстремальная «живучесть» СКО определяется гиперэкспрессией сурвивина, антиапоптотического белка, препятствующего запуску программированной клеточной гибели [55]. Индукция апоптоза в СКО («убить СКО») позволила бы значительно повысить эффективность терапии онкологических больных, и с этим видом терапии связывают большие надежды.

Было показано, что комбинированная терапия TRAIL и Cytarabine или Daunorubicin значительно снижала число клеток-предшественников при остром миелолейкозе [56]. Комбинирование TRAIL с Bortezomid, ингибитором протеасом, вызывало апоптоз в СКО глиобластомы [57]. Комбинированная терапия TRAIL с цисплатином заметно повышала жизнеспособность больных при тройном негативном раке молочной железы [58].

Продолжаются клинические испытания индукции апоптоза в СКО с использованием в качестве мишени NF-κB — транскрипционного фактора, контролирующего блокаду апоптоза, прогрессию опухоли, метастазирование и ангиогенез. Предварительные результаты указывают на то, что низкомолекулярные ингибиторы NF-κB Parthenolide, Pyrrolidinedithiocarbamate и Diethyldithiocarbamate снижали популяцию СК рака молочной железы [58].

Терапия, направленная на дифференцировку стволовой клетки опухоли

Как отмечалось выше, традиционная противоопухолевая терапия вызывает апоптоз в дифференцированных клетках и не влияет на судьбу СКО. Этот факт позволил поднять вопрос о дифференцировке СКО как промежуточной стадии в снижении прогрессии опухоли.

Ретиноевая кислота и ее аналог ATRA в настоящее время широко используются для лечения острого миелолейкоза. В. Sampos и соавт. в экспериментах *in vitro* и *in vivo* показали эффективность ATRA на индукции СК глиомы [59, 60]. С. Ginestier и соавт.

показали, что ретиноевая кислота вызывает дифференцировку СК рака молочной железы [61]. Аналогичный эффект был обнаружен и при воздействии на СКО ингибиторов гистондеацетилазы в экспериментах *in vitro* и *in vivo* на СК рака молочной железы [62]. Недавно Y. Dong и соавт. показали, что ингибитор тирозинкиназ иматиниб вызывает дифференцировку СКО глиобластомы [63].

Доклинические и предварительные результаты клинических испытаний указывают на то, что индукция дифференцировки СКО в комбинации с традиционной цитотоксической терапией существенно уменьшает популяцию СКО. Этот путь терапии, направленный на СКО, согласно последним данным, вызывал меньше всего побочных эффектов. Возможно, удастся создать препараты, которые избирательно заставят СКО интенсивно дифференцироваться и тем самым лишат их способности к самообновлению.

Создание препарата для таргетного воздействия на СКО представляет новую стратегию выбора, но вместе с тем и большую проблему: остается нерешенным вопрос о сохранении неузвимости нормальных СК.

Заключение

По уровню смертности злокачественные новообразования пока еще уступают сердечно-сосудистым заболеваниям, однако страх перед раком со всей его непредсказуемостью остается выше. Видимо, это и заставляет ученых всего мира непрерывно корректировать свои представления о механизмах возникновения и прогрессирования болезни. Исследования

последних лет привели нас к осознанию факта, что относительная устойчивость опухоли к терапии в целом и длительность ремиссии в значительной мере определяются количеством СКО в опухоли. Терапия, направленная на элиминирование СКО, только начинает развиваться — это и индукция апоптоза в СКО, и целенаправленная доставка цитотоксического препарата, и блокада эмбриональных сигнальных путей Notch, Hedgehog и Wnt/ β -catenin, и ингибирование ABC-транспортеров в СКО. На сегодняшний день зарегистрированы и продолжаются более 60 клинических испытаний I и II фазы [63], направленные на СКО. Некоторые результаты клинических исследований обнадеживают. Однако в большинстве случаев предварительные данные клинических испытаний оказались несколько иными, чем ожидалось: избежать повреждений тканевой СК не удавалось. Дополнительные сложности в решение задачи вносит также возможность перехода стволовых клеток в нестволовые.

И все же есть надежда, что нам удастся уничтожить именно СКО. Пока мы слишком мало знаем о СКО. Мы знаем, откуда они происходят, иногда мы знаем про какие-то особенности таких клеток. Однако сегодня мы уже знаем, что уничтожить рак до того, как возникнет резистентность к терапии, невозможно: устойчивые к терапии клетки образуются задолго до начала терапии. И завтра, когда мы будем знать больше о СКО, возможно, нам удастся выйти на диалог с ней. А сегодня единственно разумной представляется идея перевода острого смертельного заболевания в хроническое (to live with cancer as chronic disease).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Greavis M., Maley C.C. Clonal evolution in cancer. *Nature* 2012;481(7381):306–13. DOI: 10.1038/nature10762. PMID: 22258609.
2. Eaves C.J. Cancer stem cells: here, there, everywhere? *Nature* 2008;456(7222):581–2. DOI: 10.1038/456581a. PMID: 19052611.
3. Osisami M., Keller E.T. Mechanisms of Metastatic Tumor Dormancy. *J Clin Med* 2013;2(3):136–50. DOI: 10.3390/jcm2030136. PMID: 26237067.
4. 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 U S A* 2013;110(6):1999–2004. DOI: 10.1073/pnas.1221068110. PMID: 23345422.
5. Arnold K.M., Opdenaker L.M., Flynn D. et al. Wound healing and cancer stem cells: inflammation as a driver of treatment resistance in breast cancer. *Cancer Growth Metastasis* 2015;8:1–13. DOI: 10.4137/CGM.S11286. PMID: 25674014.
6. Nobel Prize in medicine awarded to Sir John Gurdon and Shinya Yamanaka. *www.cnn.com/2012/10/08/world/europe/sweden-nobel-prize-medicine*.
7. Gate D., Danielpour M., Bannykh S. et al. Characterization of cancer stem cells and primary cilia in medulloblastoma. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2015;14(5):600–11. PMID: 25921740.
8. Epping M.T., Bernards R. A causal role for the human tumor antigen preferentially expressed antigen of melanoma in cancer. *Cancer Res* 2006;99(3):398–403. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604494. PMID: 18648365.
9. 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(19):9339–44. DOI: 10.1158/0008-5472. PMID: 16990346.
10. Gurouard S.D., Murphy G.F. Melanoma stem cell: not rare, but well done. *Lab Invest* 2010;93:33–49. DOI: 10.1016/j.mam.2013.10.003. PMID: 24145241.
11. Dragu D.L., Necula L.G., Bleotu C. et al. Therapies targeting cancer stem cells: Current trends and future challenges. *World J Stem Cells* 2015;7(9):1185–201. DOI: 10.4252/wjsc.v7.i9.1185. PMID: 26516409.
12. Paoletti C., Hayes D.F. Circulating Tumor Cells. *Adv Exp Med Biol* 2016;882:235–58. DOI: 10.1007/978-3-319-22909-6. PMID: 26987538.
13. Azevedo A.S., Follain G., Patthabhiraman S. et al. Metastasis

- of circulating tumor cells: favorable soil or suitable biomechanics, or both? *Cell Adh Migr* 2015;9(5):345–56. DOI: 10.1080/19336918.2015.1059563. PMID: 26312653.
14. Ahn J., Sanz-Moreno V., Marshall C.J. The metastasis gene NEDD9 product acts through integrin $\beta 3$ and Src to promote mesenchymal motility and inhibit amoeboid motility. *J Cell Sci* 2012;125(Pt 7):1814–26. DOI: 10.1242/jcs.101444. PMID: 22328516.
15. North J.P., Vetto J.T., Murali R. et al. Assessment of copy number status of chromosomes 6 and 11 by FISH provides independent prognostic information in primary melanoma. *Am J Surg Pathol* 2011;35(8):1146–50. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318222a634. PMID: 21716079.
16. Hoorens I., Vossaert K., Ongenaes K. et al. Is early detection of basal cell carcinoma worthwhile? *Br J Dermatol* 2016;174(6):1258–65. DOI: 10.1111/bjd.14477. PMID: 26872563.
17. Abdullah L.N., Chow E.K. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells. *Clin Transl Med* 2013;2(1):3. DOI: 10.1186/2001-1326-2-3. PMID: 23369605.
18. Linton K.J. Structure and function of ABC transporters. *Physiology (Bethesda)* 2015;43(5):1003–10. DOI: 10.1042/BST20150132. PMID: 26517915.
19. 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. PMID: 15899824.
20. Januchowski R., Wojtowicz K., Zabel M. The role of aldehyde dehydrogenase (ALDH) in cancer drug resistance. *Biomed Pharmacother* 2013;67(7):669–80. DOI: 10.1016/j.biopha.2013.03.011. PMID: 23602050.
21. Chang L., Graham P., Hao J. et al. Cancer stem cells and signaling pathways in radioresistance. *Oncotarget* 2016;7(10):11002–17. DOI: 10.18632/oncotarget.6760. PMID: 26716904.
22. Skvortsov S., Debbage P., Lukas P. et al. Crosstalk between DNA repair and cancer stem cell (CSC) associated intracellular pathways. *Semin Cancer Biol* 2015;31:36–42. DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.06.002. PMID: 24954010.
23. He Y.C., Zhou F.L., Shen Y. et al. Apoptotic death of cancer stem cells for cancer therapy. *Int J Mol Sci* 2014;15(5):8335–51. DOI: 10.3390/ijms15058335. PMID: 24823879.
24. Ojha R., Bhattacharyya S., Singh S.K. Autophagy in Cancer Stem Cells: A Potential Link Between Chemoresistance, Recurrence, and Metastasis. *Biores Open Access* 2015;4(1):97–108. DOI: 10.1089/biores.2014.0035. PMID: 26309786.
25. 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. DOI: 10.1038/cddis.2013.50. PMID: 23492768.
26. Sato A., Okada M., Shibuya K. et al. Pivotal role for ROS activation of p38 MAPK in the control of differentiation and tumor-initiating capacity of glioma-initiating cells. *Stem Cell Res* 2014;12(1):119–31. PMID: 25473894.
27. Teicher B.A., Fricker S.P. CXCL12(SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16:2927–2931. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2329. PMID: 20484021.
28. Domanska U.M., Kruijzinga R.C., Nagengast W.B. et al. A review on CXCR4/CXCL12 axis in oncology: No place to hide. *Eur J Cancer* 2013;49:219–230. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.05.005. PMID: 22683307.
29. Sun Y., Mao X., Fan C. et al. CXCL12-CXCR4 axis promotes the natural selection of breast cancer cell metastasis. *Tumour Biol* 2014;35:7765–7773. DOI: 10.1007/s13277-014-1816-1. PMID: 24810923.
30. Orimo A., Gupta P.B., Sgroi D.C. et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell* 2005;121:335–348. DOI: PMID: 15882617.
31. Sánchez-Martín L., Sánchez-Mateos P., Cabañas C. CXCR7 impact on CXCL12 biology and disease. *Trends Mol Med* 2013;19(1):12–22. DOI: 10.1016/j.molmed.2012.10.004. PMID: 23153575.
32. Welschinger R., Liedtke F., Basnett J. et al. Plerixafor (AMD3100) induces prolonged mobilization of acute lymphoblastic leukemia cells and increases the proportion of cycling cells in the blood in mice. *Exp Hematol* 2013;41:293–302. DOI: 10.1016/j.exphem.2012.11.004. PMID: 23178377.
33. Rios A., Hsu S.H., Blanco A. et al. Durable response of glioblastoma to adjuvant therapy consisting of temozolomide and a weekly dose of AMD3100 (plerixafor), a CXCR4 inhibitor, together with lapatinib, metformin and niacinamide. *Oncoscience* 2016;3(5–6):156–63. DOI: 10.18632/oncoscience.311. PMID: 27489862.
34. Drenckhan A., Kurschat N., Dohrmann T. et al. Effective inhibition of metastases and primary tumor growth with CTCE-9908 in esophageal cancer. *J Surg Res* 2013;182:250–256. DOI: 10.1016/j.jss.2012.09.035. PMID: 23117118.
35. Wong D., Kandagatla P., Korz W. et al. Targeting CXCR4 with CTCE-9908 inhibits prostate tumor metastasis. *BMC Urol* 2014;14:12. DOI: 10.1186/1471-2490-14-12. PMID: 24472670.
36. Hoellenriegel J., Zboralski D., Maasch C. et al. The Spiegelmer NOX-A12, a novel CXCL12 inhibitor, interferes with chronic lymphocytic leukemia cell motility and causes chemosensitization. *Blood* 2014;123:1032–1039. DOI: 10.1182/blood-2013-03-493924. PMID: 24277076.
37. Jayson G.C., Kerbel R., Ellis L.M. et al. Antiangiogenic therapy in oncology: current status and future directions. *Lancet* 2016;388(10043):518–29. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01088-0. PMID: 26853587.
38. Baranyi M., Lippai M., Szatmári Z. Role of the stroma in the initiation and progression of tumors. *Orv Hetil* 2015;156(45):1816–23. DOI: 10.1556/650.2015.30294. PMID: 26522855.
39. Schwanbeck R., Martini S., Bernoth K. et al. The Notch signalling pathway: molecular basis of cell content dependency. *Eur J Cell Biol* 2011;90(6–7):572–581. DOI: 10.1016/j.ejcb.2010.10.004. PMID: 21126799.
40. Koch U., Radtke F. Notch signaling in solid tumor. *Curr Top Dev Biol* 2010;92:367–409. DOI: 10.1016/S0070-2153(10)92013-9. PMID: 20816403.
41. Vartanian A., Gatsina G., Grigorieva I. et al. The involvement of Notch signaling in melanoma vasculogenic mimicry. *Clin Exp Med* 2013;13(3):201–9. DOI: 10.1007/s10238-012-0190-9. PMID: 22627943.
42. Fan X. γ -Secretase inhibitor-resistant glioblastoma stem cells require RBPJ to propagate. *J Clin Invest* 2016;126(7):2415–8. DOI: 10.1172/JCI88619. PMID: 27322058.
43. Yen W.C., Fischer M.M., Axelrod F. et al. Targeting Notch signaling with a Notch2/Notch3 antagonist (tarextumab) inhibits tumor growth and decreases tumor-initiating cell frequency. *Clin Cancer Res* 2015;21:2084–2095. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0088. PMID: 25934888.
44. Cohen D.J. Targeting the hedgehog pathway: role in cancer and clinical implications of its inhibition. *Hematol Oncol Clin North Am* 2012;26:565–588. DOI: 10.1016/j.hoc.2012.01.005. PMID: 22520980.
45. Merchant A.A., Matsui W. Targeting Hedgehog-a cancer stem cell pathway. *Clin Cancer Res* 2010;16:3130–3140. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2846. PMID: 20530699.
46. Chen J.K. I only have eye for ewe: the discovery of cyclopamine and development of Hedgehog pathway-targeting drugs. *Nat Prod Rep* 2016;33(5):595–601. DOI: 10.1039/c5np00153f. PMID: 26787175.
47. Yang T. and Rycak K. Targeted therapy against cancer stem cells. *Oncol Lett* 2015;10:27–33. PMID: 26170972.

48. Wënd P., Holland J.D., Ziebold U. et al. Wnt signaling in stem and cancer stem cells. *Semin Cell Dev Biol* 2010;21:855–863. DOI: 10.1016/j.semcdb. 2010.09.004. PMID: 20837152.
49. Yang K., Wang X., Zhang H. et al. The evolving roles of canonical WNT signaling in stem cells and tumorigenesis: implications in targeted cancer therapies. *Lab Invest* 2016;96(2):116–36. DOI: 10.1038/labinvest. 2015.144. PMID: 26618721.
50. Le P.N., McDermott J. D., Jimeno A. Targeting the Wnt pathway in human cancers: therapeutic targeting with a focus on OMP-54F28. *Pharmacol Ther* 2015;146:1–11. DOI: 10.1016/j.pharmthera. 2014.08.005. PMID: 25172549.
51. Abdullah L.N., Chow E.K. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells. *Clin Transl Med* 2013;17:3–14. DOI: 10.1186/2001-1326-2-3. PMID: 23369605.
52. Minderman H., O'Loughlin K.L., Pendyala L. et al. VX-710(biricodar) increases drug retention and enhances chemosensitivity in resistant cells overexpressing P-glycoprotein, multidrug resistance protein, and breast cancer resistance protein. *Clin Cancer Res* 2004;10:1826–1834. PMID: 15014037.
53. Kuhlmann J.D., Hein L., Kurth I. et al. Targeting Cancer Stem Cells: Promises and Challenges. *Anticancer Agents Med Chem* 2016;16(1):38–58. PMID: 26179271.
54. Liang Y., Li S., Chen L. The physiological role of drug transporters. *Protein Cell* 2015;6(5):334–50. DOI: 10.1007/s13238-015-0148-2. PMID: 25797421.
55. Fukuda S., Pelus L.M. Survivin, a cancer target with an emerging role in normal adult tissues. *Mol Cancer Ther* 2006;5(5):1087–98. PMID: 16731740.
56. Plasilova M., Zivny J., Jelinek J. et al. TRAIL (Apo2L) suppresses growth of primary human leukemia and myelodysplasia progenitors. *Leukemia* 2002;16:67–73. PMID: 11840265.
57. Unterkircher T., Cristofanon S., Vellanki S.H. et al. Bortezomib primes glioblastoma, including glioblastoma stem cells, for TRAIL by increasing tBid stability and mitochondrial apoptosis. *Clin Cancer Res* 2011;17:4019–4030. DOI: 10.1158/1078–0432. CCR-11–0075. PMID: 21525171.
58. Yin S., Xu L., Bandyopadhyay S. et al. Cisplatin and TRAIL enhance breast cancer stem cell death. *Int J Oncol* 2011;39:891–898. DOI: 10.3892/ijo. 2011.1085. PMID: 21687939.
59. Zhou J., Zhang H., Gu P. et al. NFkappaB pathway inhibitors preferentially inhibit breast cancer stemlike cells. *Breast Cancer Res Treat* 2008;111:419–427. PMID: 17965935.
60. Campos B., Wan F., Farhadi M. et al. Differentiation therapy exerts antitumor effects on stem-like glioma cells. *Clin Cancer Res* 2010;16:2715–2728. DOI: 10.1158/1078–0432. CCR-09–1800. PMID: 20442299.
61. Ginestier C., Wicinski J., Cervera N. et al. Retinoid signaling regulates breast cancer stem cell differentiation. *Cell Cycle* 2009;8:3297–3302. PMID: 19806016.
62. Salvador M.A., Wicinski J., Cabaud O. et al. The histone deacetylase inhibitor abexinostat induces cancer stem cells differentiation in breast cancer with low Xist expression. *Clin Cancer Res* 2013;19:6520–6531. DOI: 10.1158/1078–0432. CCR-13–0877. PMID: 24141629.
63. Dong Y., Han Q., Zou Y. et al. Long-term exposure to imatinib reduced cancer stem cell ability through induction of cell differentiation via activation of MAPK signaling in glioblastoma cells. *Mol Cell Biochem* 2012;370:89–102. DOI: 10.1007/s11010-012-1401-0. PMID: 22829019.