

## Оглядові статті

УДК 616-006:576.3/4:616.831-006.484.04

Лисяний А.Н., Лисяний Н.И.

### Опухолевые стволовые клетки злокачественных глиом

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев

Глиобластомы и анапластические астроцитомы — одни из наиболее злокачественных опухолей головного мозга, в зависимости от степени анаплазии опухоли показатели выживаемости больных составляют в среднем от 1 до 3 лет, [1–4]. Клетки глиобластом активно проникают в окружающие ткани, мигрируют далеко от места роста, например, в контралатеральное полушарие, рецидивы заболевания возникают, несмотря на проведение агрессивной терапии [3, 5–7]. Более того, инфильтративный характер роста опухоли часто ограничивает возможности ее полного удаления [1, 2, 7, 8]. Еще в 30-е годы XX в. W. Dandy [9] описывал повторное возникновение глиальной опухоли в противоположном полушарии большого мозга даже после удаления всего пораженного полушария.

Эффект радиотерапии и химиотерапии глиобластом ограничен из-за их токсичности, ухудшения качества жизни больных, устойчивости клеток опухоли к этим методам лечения [3, 6, 7, 10, 11]. Наконец, глиомы угнетают иммунную систему, индуцируют появление регуляторных, супрессорных клеток в ткани опухоли и в организме [12, 13]. Таким образом, комбинированное лечение злокачественных глиом недостаточно эффективно, средняя продолжительность жизни больных составляет всего 1–3 года, природа опухолей недостаточно изучена. Более того, высокий инфильтративный и пролиферативный потенциал клеток глиобластом, их способность к миграции и инфильтрации в интактную ткань делают эти клетки похожими на нормальные нервные стволовые клетки (НСК). В работах последних десяти лет доказано, что глиобластомы содержат небольшое количество так называемых “опухолевых стволовых клеток” (ОСК), экспрессирующих молекулу CD133+, которая имеется и на нормальных стволовых НСК [7, 14–18]. Нормальные НСК очень хорошо изучены, это популяция клеток, которые экспрессируют на своей поверхности молекулу CD133+ [15, 18–22], не окрашиваются красителем Херста-33342 и обладают при культивировании *in vitro* способностью к образованию так называемых “нейросфер” [15, 23–25]. Так, при культивировании *in vitro* в отсутствие сыворотки, но при наличии факторов роста нормальные НСК в течение 10–12 дней образуют нейросферы — скопления незрелых стволовых клеток, способных к самовоспроизведению, а при добавлении питательной сыворотки и факторов дифференцировки эти клетки превращаются в прогениторные, а затем — в дифференцированные нейроны и глиальные нервные клетки [23, 24, 26].

В настоящее время созданы технологии выделения ОСК из различных опухолей мозга, изучены

их свойства, в частности, высокая инвазивность в ткань мозга, устойчивость к химиотерапии и лучевой терапии, способность к миграции на значительное расстояние в ткань мозга, способность вызывать рост опухоли у иммунодефицитных животных [6, 7, 27, 28]. Первоначально ОСК выделены и охарактеризованы при острой лейкемии, изучены их колониеобразующие свойства и фенотипические характеристики, в частности, экспрессия ими CD34+ маркера нормальных гематогенных стволовых клеток, присутствующих в костном мозге взрослых и крови из пуповины [29]. При трансплантации CD34+ клеток иммунодефицитным мышам у них возникала лейкемия, тогда как CD34- клетки не вызывали образование опухоли даже если их вводили в количестве в 100–500 раз больше [29]. Позже подобные клетки выявлены и в других опухолях, в том числе в глиобластомах. Их способность к индукции опухоли в ксеногенной модификации (клетки человека вводили мышам) и экспрессия на их поверхности молекул CD133+ как их фенотипического признака были одними из основных характеристик ОСК, что послужило важным аргументом при создании новой теории онкогенеза — теории раковых стволовых клеток [6, 17, 30–33].

Молекула CD133- представляет собой доменный трансмембранный гликопротеин променин-1, который впервые был выявлен на гемопоэтических стволовых CD34+клетках, выделенных из фетальной печени [15, 22], а затем — эмбрионального и взрослого мозга, из крови пуповины и периферической крови. Молекулярная масса променина-1 человека примерно 220 кДа, он на 60% гомологичен с променином мыши. К нему получены моноклональные антитела против CD133. Детально изучены структура, состав аминокислот установлен ген, локализованный в 4-й хромосоме [15]. Функциональное назначение этого мембранного белка не установлено, но при дифференцировке стволовых клеток он исчезает с их мембраны. Наряду с гемопоэтическими клетками, этот белок экспрессируется на клетках эмбрионального мозга, стволовых клетках печени, эндотелиальных базальных клетках предстательной железы, на различных линиях опухолевых клеток, что послужило основанием считать этот белок маркером стволовых как нормальных, так и опухолевых клеток [20–22, 33–40]. Молекулу CD133 (променин-1) в качестве маркера различных стволовых и прогениторных клеток широко используют в исследовательской работе, в том числе при изучении ОСК глиом [17, 30, 41–43].

Сегодня еще до конца неясны как природа ОСК глиом, так и их происхождение: возникли ли они из нормальных стволовых или прогениторных нервных клеток вследствие мутации или путем дедифферен-

цировки зрелых глиальных клеток под влиянием мутаций и канцерогенов, или правомерны обе гипотезы их происхождения [16, 23, 38, 44]. Установлено, что стволовые, как мезинхимальные, так и нервные клетки, имеют тропизм к опухолям, способны мигрировать даже из контралатерального полушария в опухоль. Этот тропизм к опухоли обусловлен определенными сочетаниями рецепторов цитокинов [14, 20, 45–47]. Молекулярные основы тропизма стволовых клеток к опухоли недостаточно изучены, но уже установлена важность хемоаттрактантов семейства SCF/K-kit, HGF/S-Met, MCP-1/CCR2, экспрессирующихся на НСК и определяющих направленную миграцию стволовых клеток в опухоль [4, 8, 39, 46, 48]. Миграция НСК зависит также от S-Met и фосфоинозитин-3-киназного сигнального пути стволовых клеток [49].

В свою очередь, злокачественные глиомы активно выделяют ангиогенные цитокины, ИЛ-8, эндотелиальный фактор роста (VEGF), нейротрофин-3, которые активно привлекают мезенхимальные и НСК в опухоль [19, 23, 50, 51].

Помимо этого, такие молекулы адгезии, как В-1 и В-2 интегрин и L-селектин играют важную роль как в мобилизации, так и накоплении НСК и мезенхимальных стволовых клеток в глиоме [4, 24, 25, 52]. В процессе миграции стволовых клеток в опухоль активное участие принимают металлопротеазы MMP-2 и MT-1MMP [53]. На стволовых клетках экспрессирован рецептор хемокинов CXCR-4, а его лиганд SDF-1a экспрессируется на активированных астроцитах, эндотелиальных клетках сосудов и клетках опухолей, что обуславливает их взаимодействие и способствует миграции в опухоль НСК. Если же ингибировать этот рецептор стволовых клеток, то миграцию клеток в опухоль не отмечают [54]. Антагонисты CXCR-4 подавляют миграцию НСК как в глиобластому, так и медуллобластому, что показано в эксперименте [55]. Этот механизм взаимодействия CXCR-4/SDF-1a выявляют не только в клетках опухоли мозга, но и других опухолей, например, при раке легкого блокада CXCR-4 рецептора на клетках опухоли способствует замедлению его метастазирования в мозг [56].

В настоящее время интенсивно изучаются свойства ОСК, их отношение к индукции опухолей. Так, показано, что в составе ОСК имеется субпопуляция так называемых опухолиндуцирующих клеток, которые при введении животным вызывают образование опухоли такого фенотипа, и эти клетки ответственны за возникновение рецидивов опухолей, так как они устойчивы к химиотерапии и облучению [57]. Эти клетки экспрессируют CD133 молекулу промиелин-1, которая относится к молекулам адгезии и также экспрессируют С-Мус-онкоген и, соответственно, белок с-Мус-протеин, необходимый для поддержания пролиферативного потенциала этих клеток. Блокада этого гена или его полное выключение (нокаут) способствует уменьшению пролиферации ОСК, остановке клеток в фазе G0/G1 с последующим возникновением апоптоза. В других опухолевых клетках глиом CD133 (не стволовых) блокада гена С-Мус не влияет на пролиферативный потенциал. Уменьшение уровня С-Мус белка обуславливает утрату клетками CD133+ способности к образованию

нейросфер в культуре и неспособность индуцировать рост опухоли человека у мышей при введении им ОСК. Это позволило авторам утверждать, что С-Мус онкопротеин является одним из регуляторов пролиферации и выживания ОСК [58].

CD133+ ОСК присутствуют и в медуллобластомах [35, 59], а также в клеточных линиях медуллобластом, в частности, перевивной медуллобластомной линии ДАОЦ, при введении клеток этой линии “nude” мышам наблюдали рост CD133+ медуллобластомы, а факторы роста (эпидермальный и эндотелиальный) стимулировали в культуре клеток увеличение количества CD133+ клеток, а также повышали экспрессию металлопротеаз, в частности, матриксной металлопротеазы I типа (MT-1MMP), это способствовало более быстрому росту опухоли при введении животным таких активированных клеток. При блокаде активности металлопротеаз в клетках наблюдали снижение их опухолиндуцирующей активности, это свидетельствовало, что металлопротеазная активность CD133+ ОСК является одним из факторов, ответственных за инвазию и индукцию роста опухоли [60].

Помимо металлопротеаз, на активность ОСК влияет экспрессия L-ICAM молекулы адгезии, которая экспрессировалась на CD133+ клетках. Подавление экспрессии этой молекулы обуславливало апоптоз и торможение роста опухоли [27]. Авторы считают, что эта молекула связана с факторами транскрипции *olig-2* и *p-21*, регулирующими пролиферацию клеток, и рекомендуют использовать молекулу L-ICAM в качестве мишени при терапии глиом.

Содержание в опухоли ОСК зависит от многих условий, в частности, тяжести гипоксии. Так, при усугублении гипоксии или нарушении функций митохондрий химическим путем наблюдали увеличение количества CD133+ клеток [30, 61, 62]. Авторы считают, что, регулируя степень гипоксии ткани опухоли или дисфункцию митохондрий, можно уменьшить количество CD133+ клеток в опухоли, следовательно, снизить их агрессивность и возможность возникновения рецидивов.

ОСК (CD133+) мало чувствительны к современным химиопрепаратам, в частности, темодалу, только в сублетальных для человека дозах темодал индуцировал апоптоз и ингибировал пролиферацию ОСК. Устойчивость к темодалу обусловлена наличием метилглутами-ДНК метилтрансферазы, которая подавляет действие темодала [57]. При сопоставлении активности этого фермента в ОСК у больных с глиобластомами и клинической эффективности темодала было установлено, что, чем выше активность фермента в ткани опухоли, тем меньше эффективность темодала, и наоборот [57].

Облучение опухоли в терапевтическом диапазоне доз не влияет на ОСК и, более того, имеются данные, что низкодозовое облучение повышает агрессивность и резистентность клеток опухоли в связи с увеличением содержания белка сурвивина, ответственного за устойчивость к химиотерапии и облучению, в 10–20 раз [63].

При обработке ОСК гамма-интерфероном *in vitro* наблюдали экспрессию на клетках HLA-1 антигенов и снижение пролиферативного потенциала этих клеток, тогда как другие цитокины (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6,

ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ ) не влияли на свойства ОСК. Снижение пролиферативного потенциала ОСК под влиянием гамма-интерферона обусловлено не его токсическими свойствами, а изменением биологии ОСК [64]. Таким образом, сегодня существуют многочисленные данные как о молекулярных механизмах, способствующих миграции НСК и мезенхимальных клеток в опухоль и последующей их трансформации в ОСК, так и фенотипических и генетических свойствах самих ОСК, активность которых может изменяться в зависимости от действия многих факторов и условий, например, гипоксии или ингибиции определенных рецепторов на этих клетках.

Содержание ОСК, экспрессирующих CD133 молекулу в мультиформных глиобластомах и других глиальных опухолях, различно — от 0,1 до 60% всех клеток в опухоли. ОСК можно выявлять и определять их количество разными методами, наиболее часто для этой цели используют методы иммунной проточной цитофлуорометрии или иммуногистохимические исследования ткани опухоли [31, 33, 38, 56]. В то же время, ожидаемая многими исследователями корреляция между гистологическим вариантом опухоли и содержанием CD133+ клеток в опухоли не выявлена, более того, например, в астроцитоме I–II степени анаплазии в 9 (50%) из 18 наблюдений выявлены CD133+ клетки, тогда как в глиобластомах в 5 (10%) из 48 наблюдений CD133+ клетки отсутствовали, а в 29 (61%) — их было мало, в доброкачественных эпендимоммах в 50% наблюдений обнаружены CD133+ клетки [40]. В пионерских исследованиях было показано, что клетки опухолей, не содержащие CD133+ клеток (CD133-), не способны индуцировать рост опухоли у иммунодефицитных животных, и только CD133+ клеткам присуще это свойство. В дальнейших исследованиях было установлено, что CD133- клетки способны индуцировать рост опухоли, хотя скорость роста и размеры опухоли были меньше [6, 65]. Выделенные из одной и той же глиальной опухоли CD133+ и CD133- ОСК индуцировали рост опухоли у иммунодефицитных животных. При этом, если изначально в опухоли было мало CD133+ клеток (не более 1%), опухоли возникали примерно у 33% животных и были небольшими. Если же в опухоли содержание CD133+ клеток превышало 30% опухоли, индуцированные как CD133+, так и CD133- клетками, полученными из одной и той же опухоли, возникали практически у всех животных. Размеры этих опухолей в 10 раз превышали таковые опухолей, индуцированных клетками глиобластом, содержащих мало CD133+ клеток [66]. Опухоль с малым количеством CD133+ клеток (до 0,5%) почти в 2 раза чаще прогрессировала после лучевой терапии или химиотерапии, чем опухоль, в которой количество CD133+ клеток превышало 15%, (соответственно, частота прогрессирования составляла 44,5 и 28,6%). В глиомах с высоким содержанием CD133+ клеток в большинстве наблюдений выявляли генетические нарушения, близкие “пронейрональным” изменениям, тогда как в опухолях с низким содержанием CD133+ клеток генетические нарушения были аналогичны “мезенхимальному” или “пролиферативному” субтипу нарушений [66]. Приведенные данные свидетельствуют, что, во-первых, глиомы с малым содержанием CD133+ клеток обладают агрессивными

свойствами, устойчивы к химиотерапии и облучению, способны индуцировать рост опухоли *in vitro*, следовательно, “агрессивность” и устойчивость к химиотерапии и лучевой терапии глиом зависит не только от количества CD133+ клеток в опухоли. Во-вторых, по-видимому, существует еще другая субпопуляция ОСК, на них не представлена молекула промелина-1, которую выявляют CD133 антитела. Является ли эта популяция более ранним или более поздним этапом дифференцировки стволовых клеток, или это самостоятельная субпопуляция ОСК, существующая независимо от CD133+ ОСК, для которой характерны другие генетические нарушения, не установлено.

Важное значение для ОСК, помимо молекулы CD133+, имеет экспрессия и других дифференцировочных молекул, в частности, белка нестина, характерного для НСК и очень ранних их прогениторов. По данным иммуногистохимических исследований 56 глиом низкой (II) и 68 высокой (III, IV) степени анаплазии, если в опухоли выявляют большое количество CD133+ и нестин+ клеток, это может быть прогностически неблагоприятным критерием качества и продолжительности жизни [40]. Результаты этих исследований позволили авторам рекомендовать, наряду с определением в ткани опухоли количества CD133+ клеток, определять экспрессию нестина как важного прогностического показателя выживаемости и агрессивности глиом.

В то же время, в литературе имеются и противоположные мнения. Так, при изучении двух групп мультиформных глиобластом, содержащих большое или малое количество CD133+ клеток, установлено, что эти два варианта опухоли имели идентичные, присущие глиобластомам, гистологические признаки, в то время как клетки глиобластом, в которых содержалось малое количество CD133+ клеток, имели более высокий пролиферативный и ангиогенный потенциал, чем опухоли, в которых CD133+ клеток было много [67, 68]. Авторы этих исследований делают вывод, что, вопреки многочисленным данным, они считают, что CD133- клетки глиобластом также способны индуцировать рост опухоли и имеют высокий пролиферативный потенциал, что свидетельствует о недостаточном изучении этой проблемы и необходимости дальнейшего исследования фенотипических признаков различных субпопуляций ОСК. Исследователи выделяют несколько субпопуляций ОСК, инициирующие опухоль, прогениторные клетки, в том числе, резистентные к химиотерапии. Клетки каждой из этих субпопуляций способны к самовоспроизведению или превращению одна в другую, что и обуславливает их биологические свойства, хотя фенотипические признаки этих субпопуляций не установлены [52].

В то же время, применение принципов, используемых при изучении нейрональных стволовых клеток, к биологии опухолей мозга позволило установить связь и сходство нормального нейрогенеза в головном мозге и туморогенеза [19, 24, 25, 46, 69]. Так, нормальные НСК способны генерировать 3 типа клеток — нейроны, астроциты, олигодендроциты. Мультиформные глиобластомы также содержат все три мутационно измененных типа клеток в ткани опухоли. ОСК по своим свойствам подобны НСК, и они играют ведущую роль в возникновении реци-

дивов опухоли, определяют ее устойчивость к химиотерапии и лучевой терапии. Изучение серии образцов глиобластомных опухолей в культуре клеток позволило выделить и охарактеризовать следующие свойства ОСК [33, 57, 68].

1. Присутствуют в опухоли в небольшом количестве (от 0,1 до 10%), образуют нейросферы, морфологически идентичные нейросферам, образованным нормальными НСК; экспрессируют известные нейромаркеры, например, кислый глиальный протеин.

2. ОСК способны, с одной стороны к самовоспроизведению и самоподдерживанию, с другой, к пролиферации и дифференцировке в прогениторы их всех трех вариантов; из одной изолированной материнской опухолевой клетки можно *in vitro* получить в процессе дифференцировки различные мультилинейные прогениторы.

3. ОСК, выделенные из ткани опухоли человека, при введении иммунодефицитным животным вызывают образование опухоли, гистологически идентичной первичной опухоли.

Спорным является вопрос о биологических нишах в головном мозге, в которых располагаются НСК и, возможно, ОСК. Поскольку это в основном паравентрикулярная область мозга и гиппокамп, логично предположить, что там должны быть локализованы ОСК, или оттуда должны исходить и распространяться глиальные опухоли, которые развиваются из мутированных НСК. Имеются данные, что глиомы прилегающие к боковому желудочку, более злокачественны и агрессивны по сравнению с другими глиомами, что является косвенным подтверждением образования этих опухолей из ОСК [70]. В то же время, установлено, что нормальные НСК способны мигрировать из обеих ниш в мозге и накапливаться в очагах травм или ишемии под влиянием хемокиновых сигналов, следовательно, нельзя исключать и такую возможность, что из НСК под влиянием мутаций вновь возникшие ОСК будут иметь такую же или большую возможность к миграции и инвазии в ткань мозга, индукции новых очагов роста опухолей [20, 28, 39]. Эта способность к инвазии и миграции характерна для злокачественных глиом, клетки которых способны мигрировать на значительное расстояние от первичного очага, даже в противоположное полушарие, что считают одной из причин невозможности тотального удаления опухоли. Некоторые исследователи придают важное значение микроокружению и физиологическим нишам, где нормальные НСК могут превращаться в опухолевые, более того, указывают, что, например, под влиянием антиангиогенных факторов возможно блокирование выхода ОСК из ниш [24, 52]. Теоретически можно предположить, что разрушение или уничтожение в этих нишах самоподдерживающей популяции стволовых клеток может способствовать предупреждению первичного и торможению повторного, рецидивного роста опухолей [24].

Таким образом, на основании анализа приведенных данных о фундаментальных достижениях в области онкологии, в том числе нейроонкологии, за последнее десятилетие создана новая теория онкогенеза, теория об ОСК, которая не только заменила старую, много лет существовавшую, но и позволила объяснить причины рецидивирования, метастазиро-

вания и устойчивости опухолей к лучевой терапии и химиотерапии. Кроме того, и, возможно, самое главное, возможность выделения ОСК и работы с ними в условиях культуры клеток и в эксперименте на животных позволяет всесторонне изучать сходство и различия между нормальными НСК и ОСК, проводить исследования по поиску и разработке новых принципов, методов терапии, а также созданию препаратов для лечения таких инкурабельных опухолей, как злокачественные глиомы, на основе установленных свойств РСК.

### Список литературы

1. Глиомы головного мозга / Ю.А. Зозуля, И.Г. Васильева, А.Я. Главацкий [и др.]. — К.: УИПК ЕквОб, 2007. — 630 с.
2. Gliadel (BCNU) wafer plus concomitant temozolomide therapy after primary resection of glioblastoma multiforme / M.J. McGirt, K.D. Than, J.D. Weingart [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2009. — V.110, N3. — P.583–588.
3. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning / S. Miraglia, W. Godfrey, A.H. Yin [et al.] // *Blood.* — 1997. — V.90. — P.5013–5021.
4. Xie Z. Molecular and cell biology of brain tumor stem cells: lessons from neural progenitor/stem cells / Z. Xie, L.S. Chin // *Neurosurg. Focus.* — 2008. — V.24, N3–4. — P.123–129.
5. Holland E.C. Glioblastoma multiforme: the terminator / E.C. Holland // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — V.97, N12. — P.6242–6244.
6. Vascular endothelial growth factor A contributes to glioma-induced migration of human marrow stromal cells (hMSC) / C. Schichor, T. Birnbaum, N. Etminan [et al.] // *Exp. Neurol.* — 2006. — V.199, N2. — P.301–310.
7. Identification of human brain tumour initiating cells / S.K. Singh, C. Hawkins, I.D. Clarke [et al.] // *Nature.* — 2004. — V.432, N7. — P.396–401.
8. Prospective randomized trial of low-versus high-dose radiation therapy in adults with supratentorial low-grade glioma: initial report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study / E. Shaw, R. Arusell, B. Scheithauer [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2002. — V.20, N9. — P.2267–2276.
9. Dandy W. Removal of right cerebral hemispheres for certain tumors with hemiplegia: preliminary report / W. Dandy // *J.A.M.A.* — 1928. — V.90. — P.823–825.
10. Malignant glioma: who benefits from adjuvant chemotherapy? / L.M. DeAngelis, P.C. Burger, S.B. Green, J.G. Cairncross // *Ann. Neurol.* — 1998. — V.44, N4. — P.691–695.
11. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low-grade cerebral glioma: European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Study 22844 / A.B. Karim, B. Maat, R. Hatlevoll et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 1996. — V.36, N3. — P.549–556.
12. Лисяный Н.И. Изменение иммунных реакций при различных видах глиом / Н.И. Лисяный // Глиомы головного мозга / под ред. Ю.А. Зозули. — К.: УИПК ЕквОб, 2007. — С.235–252.
13. Increased regulatory T-cell fraction amidst a diminished CD4 compartment explains cellular immune defects in patients with malignant glioma / P. Fecci, D. Mitchell, J. Whitesides [et al.] // *Cancer Res.* — 2006. — V.66, N6. — P.3294–3302.
14. Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence from intracranial gliomas / K.S. Aboody, A. Brown, N.G. Rainov [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — V.97, N23. — P.12846–12851.
15. Bidlingmaier S. The utility and limitations of glycosylated human CD133 epitopes in defining cancer stem cells / S. Bidlingmaier, Z. Xiaodong, L. Bin // *J. Mol. Med.* — 2008. — V.86, N9. — P.1025–1032.
16. Dietrich J. Mechanisms of disease: the role of stem cells

- in the biology and treatment of gliomas / J. Dietrich, J. Imitola, S. Kesari // *Nat. Clin. Pract. Oncol.* — 2008. — V.5, N7. — P.393–404.
17. Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma / R. Galli, E. Binda, U. Orfanelli [et al.] // *Cancer Res.* — 2004. — V.64. — P.7011–7021.
  18. Tu S.M. Stem-cell origin of metastasis and heterogeneity in solid tumours / S.M. Tu, S.H. Lin, C.J. Logothetis // *Lancet Oncol.* — 2002. — V.3, N8. — P.508–513.
  19. Selective migration of neuralized embryonic stem cells to stem cell factor and media conditioned by glioma cell lines / P. Serfozo, M.S. Schlarman, C. Pierret [et al.] // *Cancer Cell Int.* — 2006. — V.6. — P.234–268.
  20. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells / A.H. Yin, S. Miraglia, E.D. Zanjani [et al.] // *Blood.* — 1997. — V.90. — P.5002–5012.
  21. Neural stem cells as novel cancer therapeutic vehicles / S. Yip, R. Sabetrasekh, R.L. Sidman, E.Y. Snyder // *Eur. J. Cancer.* — 2006. — V.42, N9. — P.1298–1308.
  22. Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme / X. Yuan, J. Curtin, Y. Xiong [et al.] // *Oncogene.* — 2004. — V.23. — P.9392–9400.
  23. Constitutive EGFR signaling confers a motile phenotype to neural stem cells / J.A. Bookvar, D. Kapitonov, G. Kapoor [et al.] // *Mol. Cell. Neurosci.* — 2003. — V.24, N4. — P.1116–1130.
  24. Kosztowski T. Applications of neural and mesenchymal stem cells in the treatment of Gliomas / T. Kosztowski, H. Zaidi, A. Quicones-Hinojosa // *Expert Rev. Anticancer Ther.* — 2009. — V.9, N5. — P.597–612.
  25. Stem cells, cancer, and cancer stem cells / T. Reya, S.J. Morrison, M.F. Clarke [et al.] // *Nature.* — 2001. — V.414. — P.105–111.
  26. Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects / P. Vaupel // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2001. — V.93, N93. — P.266–276.
  27. Targeting cancer stem cells through L1CAM suppresses glioma growth / S. Bao, Q. Wu, Z. Li [et al.] // *Cancer Res.* — 2008. — V.68, N15. — P.6043–6048.
  28. Direct isolation of human central nervous system stem cells / N. Uchida, D.W. Buck, D. He [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — V.97. — P.14720–14725.
  29. Bonnet D. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell / D. Bonnet, J.E. Dick // *Nat. Med.* — 1997. — V.3. — P.730–737.
  30. Gillespie GY. CD133 is a marker of bioenergetic stress in human glioma / C.E. Griguer, C.R. Oliva, E. Gobin [et al.] // *PLoS One.* — 2008. — V.3, N11. — P.3655–3665.
  31. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells / L. Ricci-Vitiani, D.G. Lombardi, E. Pilozzi [et al.] // *Nature.* — 2007. — V.445. — P. 111–115.
  32. Inhibition of breast cancer metastasis by selective synthetic polypeptide against CXCR4 / Z. Liang, T. Wu, H. Lou [et al.] // *Cancer Res.* — 2004. — V.64, N12. — P.4302–4308.
  33. Nestin and CD133: valuable stem cell-specific markers for determining clinical outcome of glioma patients / M. Zhang, T. Song, L. Yang [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* — 2008. — V. 24, N27. — P.85.
  34. The human AC133 hematopoietic stem cell antigen is also expressed in epithelial cells and targeted to plasma membrane protrusions / D. Corbeil, K. Roper, A. Hellwig [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2000. — V.275. — P.5512–5520.
  35. Cuo W. Cancer stem cells / W. Guo, J.L. Lasky, H. Wu // *Pediatr. Res.* — 2006. — V.59. — P.59–64.
  36. Mizrak D. CD133: molecule of the moment / D. Mizrak, M. Brittan, M. Alison // *J. Pathol.* — 2008. — V.214. — P.3–9.
  37. MMP-2, MT1-MMP and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines / C. Ries, V. Egea, M. Karow [et al.] // *Blood.* — 2007. — V.109, N9. — P.4055–4063.
  38. Stiles C.D. Glioma stem cells: a midterm exam / C.D. Stiles, D.H. Rowitch // *Neuron.* — 2008. — V.58, N6. — P.832–846.
  39. Xu F. Stem cells tropism for malignant gliomas / F. Xu, J.H. Zhu // *Neurosci. Bull.* — 2007. — V.23, N6. — P.363–369.
  40. CXCR4 is a major chemokine receptor on glioma cells and mediates their survival / Y. Zhou, P.H. Larsen, C. Hao, V.W. Yong // *J. Biol. Chem.* — 2002. — V.277, N51. — P.49481–49487.
  41. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population / A. Eramo, F. Lotti, G. Sette [et al.] // *Cell. Death Differ.* — 2008. — V.15. — P.504–514.
  42. Low-dose radiation enhances surviving-mediated virotherapy against malignant glioma stem cells / S. Nandi, I.V. Ulasov, M.A. Tyler [et al.] // *Cancer Res.* — 2008. — V.68, N14. — P.5778–5784.
  43. Sun L. Neuronally expressed stem cell factor induces neural stem cell migration to areas of brain injury / L. Sun, J. Lee, H.F. Fine // *J. Clin. Invest.* — 2004. — V.113, N9. — P.1364–1374.
  44. Characterization of CD133+hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells / A. Suetsugu, M. Nagaki, H. Aoki [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2006. — V.351. — P.820–824.
  45. Antitumor effect of genetically engineered mesenchymal stem cells in a rat glioma model / K. Hakamura, Y. Ito, Y. Kawano [et al.] // *Gene Ther.* — 2004. — V.11, N14. — P.1155–1164.
  46. Neural stem cell migration toward gliomas in vitro / O. Heese, A. Disko, D. Zirkel [et al.] // *Neurooncol.* — 2005. — V.7, N4. — P.476–484.
  47. Effects of hypoxia on the proliferation and differentiation of NSCs / L.L. Zhu, L.Y. Wu, D.T. Yew, M. Fan // *Mol. Neurobiol.* — 2005. — V.31. — P.231–242.
  48. Incorporation of CXCR4 into membrane lipid rafts primes homing-related responses of hematopoietic stem/progenitor cells to an SDF-1 gradient / M. Wysoczynski, R. Reca, J. Ratajczak [et al.] // *Blood.* — 2005. V.105, N1. — P.40–48.
  49. Neural stem cell targeting of glioma is dependent on phosphoinositide-3-kinase signalling / S.E. Kendall, J. Najbauer, H.F. Johnston [et al.] // *Stem Cells.* — 2008. — V.26, N6. — P.1575–1586.
  50. Malignant gliomas actively recruit bone marrow stromal cells by secreting angiogenic cytokines / T. Birnbaum, J. Roeder, C.J. Schankin [et al.] // *J. Neurooncol.* — 2007. — V.83, N3. — P.241–247.
  51. Brain tumor tropism of transplanted human neural stem cells is induced by vascular endothelial growth factor / N.O. Schmidt, W. Przylecki, W. Yang [et al.] // *Neoplasia.* — 2005. — V.7, N6. — P.623–629.
  52. Hadjipanayis C.G. Tumor initiating cells in malignant gliomas: biology and implications for c-Myc is required for maintenance of glioma cancer stem cells / C.G. Hadjipanayis, E.G. Van Meir // *J. Mol. Med.* — 2009. — V.87, N4. — P.363–374.
  53. A small-molecule antagonist of CXCR4 inhibits intracranial growth of primary brain tumors / J.B. Rubin, A.L. Kung, R.S. Klein [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — V.100, N23. — P.13513–13518.
  54. Glioma tropic neural stem cells consist of astrocytic precursors and their migratory capacity is mediated by CXCR4 / M. Ehteshami, X. Yuan, P. Kabos [et al.] // *Neoplasia.* — 2004. — V.6, N3. — P.287–293.
  55. Sakariassen P.O. Cancer stem cells as mediators of treatment resistance in brain tumors: status and controversies / P.O. Sakariassen, H. Immervoll, M. Chekenya // *Neoplasia.* — 2007. — V.9. — P.882–892.
  56. Extent of surgical resection is independently associated with survival in patients with hemispheric infiltrating low-grade gliomas / M.J. McGirt, K.L. Chaichana, F.J. Attenello [et al.] // *Neurosurgery.* — 2008. — V.63, N4. — P.700–707.
  57. Beier D. Temozolomide preferentially depletes cancer stem cells in glioblastoma / D. Beier, S. Röhrli, D.R. Pillai [et al.] // *Cancer Res.* — 2008. — V.68, N14. — P.5706–5715.
  58. Wen P.Y. Malignant gliomas in adults / P.Y. Wen, S. Kesari // *New Engl. J. Med.* — 2008. — V.359, N5. — P.492–507.
  59. Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors / H.D. Hemmati, I. Nakano, J.A. Lazareff [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — V.100, N25. — P.15178–15183.
  60. Tumor environment dictates medulloblastoma cancer stem

- cell expression and invasive phenotype / B. Annabi, S. Rojas-Sutterlin, C. Laflamme [et al.] // *Mol Cancer Res.* — 2008. — V.6, N6. — P.907–916.
61. Blazek E.R. Daoy medulloblastoma cells that express CD133 are radioresistant relative to CD133- cells, and the CD133+ sector is enlarged by hypoxia / E.R. Blazek, J.L. Foutch, G. Maki / *Int J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2007. — V.67. — P.1–5.
62. Rafii S. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration / S. Rafii, D. Lyden // *Nat. Med.* — 2003. — V.9, N6. — P.702–712.
63. Pardal R. Applying the principles of stem-cell biology to cancer / R. Pardal, M. Clarke, S. Morrison // *Nat. Rev. Cancer.* — 2003. — V.3. — P.895–902.
64. Cytomegalovirus infection and interferon-gamma modulate major histocompatibility complex class I expression on neural stem cells / M.C. Cheeran, Z. Jiang, S. Hu S [et al.] // *J. Neurovirol.* — 2008. — V.14, N5. — P.437–447.
65. CD133(+) and CD133(-) glioblastoma-derived cancer stem cells show differential growth characteristics and molecular profiles / D. Beier, P. Hau, M. Proescholdt [et al.] // *Cancer Res.* — 2007. — V.67, N6. — P.4010–4015.
66. Clinical and biological implications of CD133-positive and CD133-negative cells in glioblastomas / M. Kyeung, K. Shi Yean, J. Xun [et al.] // *Lab. Invest.* — 2008. — V.88. — P. 808–815.
67. Biological and genetic characteristics of tumor-initiating cells in colon cancer / K. Ieta, F. Tanaka, N. Haraguchi [et al.] // *Cancer Ann. Surg. Oncol.* — 2008. — V.15. — P.638–648.
68. Glioma stem cells: a midterm exam / M.S. Lesniak, H. Brem, C.D. Targ Stiles, D.H. Rowitch // *Neuron.* — 2008. — V.58, N6. — P.832–846.
69. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors / M. Peichev, A.J. Naiyer, D. Pereira [et al.] // *Blood.* — 2000. — V.95. — P.952–958.
70. Relationship of glioblastoma multiforme to the lateral ventricles predicts survival following tumor resection / K.L. Chaichana, M.J. McGirt, J. Frazier [et al.] // *J. Neurooncol.* — 2008. — V.89, N2. — P.219–224.

Одержано 22.01.2010

Лісяний О.М., Лісяний М.І.

**Пухлинні стовбурові клітини злоякісних гліом**

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, м. Київ

Наведені дані останніх досліджень про пухлинні стовбурові клітини, які містяться в злоякісних гліомах головного мозку. Пухлинні стовбурові клітини подібні до звичайних нейральних стовбурових клітин мозку. Вони експресують CD133+ молекулу, яка є специфічним маркером цих клітин, вони здатні до міграції та інфільтрації з пухлини у тканину інтактного мозку. Вони є причиною рецидивування та повторного росту гліальних пухлин. Пухлинні стовбурові клітини є хіміо- та радіорезистентними, вони зумовлюють ріст пухлин у імунodefіцитних тварин в експерименті.

Пухлинні стовбурові клітини — це новий об'єкт для дослідження та розробки нових методів лікування злоякісних гліом головного мозку.

**Ключові слова:** нейральна стовбурова клітина, пухлинна стовбурова клітина, гліоми, гліобластоми, CD133+ клітини.

Лісяний А.Н., Лісяний Н.И.

**Опухолевые стволовые клетки злокачественных глиом**

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, г. Київ

Приведены данные последних исследований об опухолевых стволовых клетках, которые определяются в злокачественных глиомах мозга. Опухолевые стовбурові клітини подібні до звичайних нейральних стовбурових клітин мозку. Вони експресують CD133+ молекулу, яка є специфічним маркером цих клітин, вони здатні до міграції та інфільтрації з пухлини у тканину інтактного мозку. Вони є причиною рецидивування та повторного росту гліальних пухлин. Пухлинні стовбурові клітини є хіміо- та радіорезистентними, вони зумовлюють ріст пухлин у імунodefіцитних тварин в експерименті.

Опухолевые стовбурові клітини — это новый объект для исследований и разработки новых методов лечения злокачественных глиом мозга.

**Ключевые слова:** нейрональные стовбурові клітини, опухолевые стовбурові клітини, гліоми, гліобластоми, CD133+ клетки.

Lisiany A.N., Lisiany N.I.

**Tumor stem cells of malignant gliomas**Institute of neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov  
of Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

Data of last researches, devoted to tumor stem cells, that are identified in malignant gliomas, are given. Tumor stem cells are similar to ordinary neural stem cells of the brain. They express CD133+ molecule marker, are able to migrate and infiltrate intact brain tissue. They cause relapses and recurrent growth of malignant tumors. Tumor stem cells are resistant to chemical and radiotherapy and lead to growth tumor at experimental animals with immunodeficit.

Tumor stem cells — are a new subject for investigation and development of new treatment strategies for brain gliomas.

**Key words:** neural stem cells, tumor stem cells, gliomas, glioblastomas, CD133+ cells.