

УДК: 616-006-018:576.8.097.2:616.831-006-085



Бельська Л. М., Лісяний М. І.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ, Україна

e-mail: adsg@ukr.net

# СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ ПУХЛИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ: ФЕНОТИПІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА МЕТОДИ НАПРАВЛЕННОГО ТЕРАПЕВТИЧНОГО ВПЛИВУ

## РЕЗЮМЕ

В огляді представлені сучасні уявлення на походження, способи отримання та фенотипічну характеристику стовбурових клітин пухлин головного мозку. Показана фенотипічна подібність за молекулярними маркерами між пухлинними та нейральними стовбуровими клітинами. Описані терапевтичні підходи направленного впливу на пухлинні стовбурові клітини та внутрішньоклітинні сигнальні шляхи стовбурових клітин пухлин головного мозку.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** стовбурові клітини пухлин головного мозку, нейральні стовбурові клітини, злоякісні гліоми, CD133, нестін

Лікування хворих на онкологічні захворювання становить значну медичну та соціальну проблему. У світі неухильно зростає кількість захворювань на злоякісні пухлини, в тому числі і пухлини центральної нервової системи (ЦНС). Пухлини ЦНС становлять від 2% до 5% серед онкологічних захворювань людини. На гліальні пухлини припадає 50%, серед них найбільш злоякісні форми III-IV ступеня анаплазії складають від 40% до 50%. Середня тривалість життя хворих з анапластичними гліомами та гліобластомами в середньому складає 14-18 місяців, не дивлячись на агресивну терапію, основану на хірургічній резекції, що завершується променевою та супутньою хіміотерапією.

Останнім часом велика увага дослідників приділяється вивченню клітин, які виділяються з пухлин та мають властивості стовбурових клітин, що, можливо, надасть нове розуміння природи пухлин, причин неефективності різних методів лікування пухлин і буде сприяти розробці та вивченню ефективності різних методів лікування онкологічних захворювань.

Одне з перших свідомств існування пухлинних стовбурових клітин (ПСК) було показано групою учених під керівництвом J. Dick в 1997 році. Вони досліджували гострий мієлолейкоз, при якому субпопуляція, що становила 0,01-1% від загальної кількості клітин і була охарактеризована фенотипічно як CD34<sup>+</sup>, могла викликати лейкемію при трансплантації імунodefіцитним мишам ліній «severe combined immunodeficiency» (SCID) або «nonobese diabetic-severe combined immunodeficiency» (NOD-SCID). При трансплантації гемопоетичних клітин від пацієнтів з гострим мієлоїдним, гострим лімфобластним або хронічним мієлоїдним лейкозом тільки невелика частина клітин виявилася здатною ініціювати відповідний лейкоз і підтримувати його у мишей-реципієнтів [1].

Дані, отримані за останні роки, показали наявність ПСК в пухлинах товстої кишки, молочної залози, підшлункової залози, печінки, легень, в мезенхімальних пухлинах та в пухлинах головного мозку (гліомах, медулобластомах, епендимоммах тощо) [2-5]. Донедавна вважалося, що кількість ПСК в ряді злоякісних новоутворень складає 0,01-1% від загальної популяції клітин пухлин, проте з накопиченням експериментальних робіт на сучасному етапі показано, що чисельність ПСК в різних типах пухлин коливається в межах від 1% до 20%, а в деяких випадках і більше.

Стовбурові клітини пухлин головного мозку (СКПГМ) характеризуються необмеженою здатністю до самопідтримання, формуванням пухлини при ортотопічній імплантації, генетичними пошкодженнями, генерацією пухлинних клітин [6]. ПСК володіють високою здатністю до інвазії, стимулюють формування кровосносних судин і є ініціюючим чинником міграції клітин [2, 3]. Крім того, вони беруть участь у стимуляції канцерогенезу: з'являється все більше доказів того, що ці клітини сприяють прогресії пухлини та її метастазуванню [7, 8]. Даний тип клітин відповідає за хіміо-, радіорезистентність, рецидивування пухлини після хірургічного втручання та променевої терапії.

## ПОХОДЖЕННЯ, ОТРИМАННЯ ТА ФЕНОТИПІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПУХЛИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ

На сучасному етапі досліджень залишається дискусійним питання стосовно походження СКПГМ. В якості джерел СКПГМ розглядаються нейрональні стовбурові клітини (НСК), нейрональні клітини-попередники та диференційовані клітини гліоми. Так, Shiras A. і співавт. (2007) підтвердили можливість спонтанної

трансформації CD133<sup>+</sup> НСК в пухлинні клітини гліом [9]. Описано виникнення олігодендрогліальних пухлин із гліальних клітин-попередників із залученням PDGFR-асоційованих шляхів [10]. Junier M. та Sharif A. (2011) продемонстрували, що під впливом трансформуючого ростового фактора TGF- $\alpha$ , який експресується на ранніх стадіях прогресування пухлини, астроцити можуть набути фенотипу нейрональних клітин-попередників, які надалі під дією опромінення набувають злоякісні властивості, що може свідчити, на думку авторів, про можливість злоякісної трансформації зрілих гліальних клітин та утворення з них ПСК гліом [11]. Продемонстрована можливість трансформації диференційованих клітин гліом в ПСК в умовах гіпоксії [5].

В даний час описано декілька методів отримання та ідентифікації ПСК, в тому числі і ПСКГМ, а саме:

- визначення експресії молекули CD133 (промінін-1);
- визначення клітин «side population» (SP);
- утворення нейросфер в культурі клітин *in vitro* та можливість ПСК відтворити у імунodefіцитних тварин пухлину, гістологічно ідентичну первинній пухлині.

CD133 (промінін-1) є трансмембранним глікопротеїдом з п'ятьма трансмембранними доменами і двома великими N-глікозильованими позаклітинними петлями, який локалізується на випинаннях плазматичної мембрани і мікродоменах. Промінін-1 вперше був виявлений на гемопоетичних стовбурових CD34-позитивних клітинах, отриманих з фетальної печінки, а в подальшому з крові пуповини і периферичної крові та ембріонального і дорослого мозку. Функція промініна-1 не повністю відома, проте при диференціюванні стовбурових клітин даний мембранний білок не визначається. Однонуклеотидна делеція промініну-1 відповідальна за спадкову форму ретикулярної дегенерації. Не дивлячись на невідому клітинну функцію промініна-1, він є маркером для багатьох ПСК, ідентифікованих до теперішнього часу, включаючи ПСК гліом, легень, печінки, простати тощо [4, 12]. Таким чином, при використанні проточного цитофлюориметра можливо ідентифікувати ПСК за експресією маркера CD133.

Необхідно зазначити, що кількісний вміст CD133<sup>+</sup> клітин можна визначати в тканині пухлин не тільки з використанням проточного цитофлюориметра, а і за допомогою імуногістохімічного дослідження. Так, за допомогою цитофлюориметрії продемонстровано [13], що вміст CD133<sup>+</sup> клітин в гліобlastомах складав від 0,1% до 46,8%, в медулобlastомах від 6,1% до 45,4%, а в пілоцитичних астроцитомах від 3,5% до 37,1%. Інші автори [14] при імуногістохімічному дослідженні показали наявність високого (більше 60%) вмісту CD133<sup>+</sup> клітин в тканині при дослідженні гліальних пухлин різного ступеня анаплазії: в 29,2% гліобlastом, 18,2% анапластичних астроцитом, 83,3% злоякісних олігодендрогліом, 6,7% епендимом, 0% астроцитом, 50% олігодендростроцитом, 9,1% олігодендрогліом. Відсутність або незначна (менш 4%) кількість CD133<sup>+</sup> клітин виявлена в 10,4% гліобlastом, в 18,2% анапластичних астроцитом, 0% злоякісних олігодендрогліом. В злоякісних гліомах CD133<sup>+</sup> клітини представлені субпопуляцією невеликих клітин з блакитною цитоплазмою, здатних до об'ємного росту в вигляді округлих нейросфер.

Щодо прогностичного значення та кореляції між рівнем CD133<sup>+</sup> клітини і строком виживання хворих з гліомами головного мозку на сучасному етапі існують суперечливі дані. Так, Pallini R. і співавт. (2011) досліджували експресію CD133 в 44 гліобlastомах і показали, що наявність 2% CD133<sup>+</sup> клітин та наявність CD133/Ki67 ко-експресії були пов'язані з несприятливим результатом виживання нейроонкологічних хворих [15]. Zepfner F. та співавт. (2008) виявили, що присутність CD133 кластерів і великих кількостей CD133<sup>+</sup> клітин корелювали з короткими терміном виживання [16]. Ma Y. H. і співавт. (2008) при дослідженні експресії CD133 за допомогою ПЛР-методу показали значно вищий рівень CD133<sup>+</sup> клітин в пухлинній тканині в порівнянні з тканиною нормального

мозку [17]. Проте Кім К. та співавт. (2012) не встановили певних відмінностей між рівнем CD133<sup>+</sup> клітин та строками виживання хворих з мультиформною гліобlastомою [18].

В залежності від кількісного вмісту CD133<sup>+</sup> клітин мультиформні гліобlastоми мають різний фенотип. Так, мультиформні гліобlastоми з низьким вмістом CD133<sup>+</sup> клітин (менше 3%) мають тенденцію до розташування в більш глибоких структурах півкуль, мають більш інвазивний ріст з більш частим залученням шлуночків та прогресуванням на фоні хіміопроменевої терапії; а також генний профіль, характерний для мезенхімального та проліферативного підтипів. В той же час мультиформні гліобlastоми з високим вмістом CD133<sup>+</sup> клітин мають пронеуральний фенотип.

Слід зазначити, що ПСК, виділені з тканини пухлини ЦНС або клітинної лінії пухлини людини, при введенні імунodefіцитним тваринам викликають утворення пухлини, гістологічно ідентичної первинній пухлині. Показано, що введення 133<sup>+</sup> ПСК, виділених з клітинної лінії медулобlastом, nude-мишам призводило до розвитку медулобlastоми. Виділення CD133<sup>+</sup>-клітин з гліобlastом та подальше введення мишам nude даних клітин сприяло розвитку пухлини у 100% тварин. При цьому розвитку ідентичної пухлини при введенні ПСК імунodefіцитним тваринам залежить від кількості CD133<sup>+</sup> клітин. Показано, що при малому (до 1%) початковому вмісті CD133<sup>+</sup> клітин в пухлині розвиток пухлини невеликого розміру визначався приблизно у 1/3 частини експериментальних тварин. Збільшення вмісту в пухлині CD133<sup>+</sup> клітин до 30% сприяло практично 100% відтворенню пухлини.

Ідентифікація ПСК з визначенням «side population» заснована на здатності стовбурових клітин після обробки барвником Hoechst 33342 флуоресцювати в синій і червоній зоні спектру при довжині хвилі збудження 366 нм. В клітинах пухлин знайдені гени ABCG2, ABCB1 і ABCC1, які кодують білки, що здійснюють транспорт як гідрофобних, так і гідрофільних з'єднань з клітин в середовище, і саме вони забезпечують викид барвників Hoechst і родаміна. По здатності клітин видаляти Hoechst 33342 серед пухлинних клітин була знайдена SP в 15 з 23 зразків нейробlastом. При цьому клітини SP були здатні проліферувати *in vitro*, ділилися асиметрично і утворювали нейросфери. При дослідженні клітинної лінії гліоми C6 клітини SP були здатні ініціювати розвиток пухлини та відтворювати повний пухлинний фенотип, що свідчить про наявність у SP-клітин ключових властивостей стовбурових клітин – здатності до самовідтворення та диференціювання. Крім того, тільки SP-клітини були здатні формувати нейросфери, що є однією з важливих ознак НСК, та диференціюватися в нейрональні лінії.

Методи культивування СКПГМ подібні до методів культивування НСК. Це культивування в безсироватковому середовищі в присутності факторів росту rhEGF, rhFGF- $\beta$  або B-27 [12, 19]. При культивуванні в даних умовах частина ПСК внутрішньомозкових пухлин утворює нейросфери. Так, при дослідженні гліом різного ступеню анаплазії в культурі нейросфери виявлені в 11,7% гліобlastом, 5,8% анапластичних олігодендрогліом, 29,4% анапластичних астроцитом [20]. Проте іншими авторами показано утворення нейросфер в 100% випадків при культивуванні гліобlastом та медулобlastом в присутності факторів росту в поживному середовищі без сироватки. В процесі культивування ПСК гліальних пухлин відмічається зміна кількості CD133<sup>+</sup> клітин та їх маркерів диференціювання. Продемонстровано збільшення кількості CD133<sup>+</sup> клітин від 3,65% до 14,6% та нестін-позитивних клітин від 28,9% до 45,4% протягом культивування з 7-ї по 21-у добу [20].

В літературі описані фактори, які стимулюють та пригнічують кількісний вміст CD133<sup>+</sup> клітин в культурі та впливають на активність даних клітин. Показано, що епідермальний фактор росту (EGF) та фактор росту ендотелію судин (VEGF) стимулюють зростання кількості CD133<sup>+</sup> клітин в культурі, а також посилюють експресію матриксних металопротеїназ, що сприяє більш швидкому росту пухлини при введенні імунodefіцитним тваринам даних

активованих клітин. На противагу, пригнічення експресії молекули адгезії L-ICAM, яка пов'язана з транскрипційними факторами *oligo2* та з *oligo21*, що регулюють апоптоз і експресується на поверхні CD133<sup>+</sup> клітин, призводить до апоптозу та пригнічення росту пухлини [21].

Слід зазначити, що експресія CD133 характерна і для НСК. Так, в дослідженні Pallini R. і співавт. (2011) продемонстровано, що серед CD133<sup>+</sup> клітин в гліобластомі від 20% до 60% складають CD133<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> НСК, при цьому збільшення їх кількості сприятливо впливає на виживаність хворих з рецидивуючою мультиформною гліобластомою [15]. НСК мігрують в тканину пухлини та проявляють протипухлинні властивості за рахунок супресуючих факторів, зокрема BMP-7 (bone morphogenetic protein), який відноситься до родини цитокінів TGF- $\beta$ . При дії BMP-7 стовбурові клітини гліом, які несуть на своїй поверхні відповідний рецептор, зменшують проліферацію та диференціюються по астроцитарному або по нейрональному типу, що зменшує їх туморогенні властивості.

Слід зазначити, що до теперішнього часу до кінця не з'ясована панель специфічних маркерів СКПГМ. Показано, що стовбурові клітини, виділені з гліом, експресують маркери CD133, CD105, CD90, CD15, CD24, CD20, CD44, Nanog, Oct3/4, CXCR4 (CD184), NF (neurofilament protein), GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase). Крім цього, СКПГМ експресують маркери, характерні для НСК, зокрема, GFAP (glial fibrillary acid protein), нестін, Sox-2, Misashi-1, Vmi-1 та не експресують ранні (Tuj1) та пізні (NeuN) нейрональні маркери та олігодендрогліальний маркер Olig-1 [22]. При культивуванні СКПГМ можуть диференціюватися та набувати маркери нейрональної, астроцитарної та оліго-дендрогліальної ліній (Tuj1, Olig-1, NeuN та  $\beta$ III-турбулін). Таким чином, поряд з визначенням молекули CD133 важливе значення для ПСК мають і інші молекули диференціювання.

CD15 являє собою кластер диференціовального антигену, який ідентифікований в різних нормальних тканинах і в різних типах раку, включаючи гліоми [23], та розглядається в якості маркера ПСК. Імплантації CD15-позитивних клітин гліоми в мозок миші викликає утворення нових пухлин [24].

CD44 – глікопротеїн, який є рецептором для гіалуронату – головного компоненту позаклітинного матриксу, сам по собі або в комбінації з іншими поверхневими маркерами використовується для ідентифікації клітин з властивостями стовбурової клітини з різних типів пухлин, включаючи рак молочної залози, простати, кишечника, підшлункової залози і сквамозно-клітинних карцином голови та шиї. В результаті зв'язування гіалуронату CD44 активує багато рецепторних тирозинкіназ, включаючи EGFR і ErbB2, у багатьох типах раку. Це призводить до підвищеної проліферації і виживання клітин через активацію MAPK і шляхів PI3K/Akt відповідно.

CD90 є маркером гемопоетичних, мезенхімальних клітин, стовбурових клітин печінки та ПСК раку печінки. Показана висока частота виявлення CD90<sup>+</sup> клітин при злоякісних гліомах та відсутність даної популяції клітин при доброякісних астроцитомах і в нормальній тканині. Встановлено, що 100% CD133<sup>+</sup> ПСК експресують маркер CD90, а рівень експресії CD133 та CD90 зменшується при диференціюванні ПСКГМ в клітини гліоми. Здатність до формування нейросфер рівнозначна між CD90<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup> та CD90<sup>+</sup>CD133<sup>-</sup> клітинами та вдвічі вища, ніж у CD90<sup>-</sup>CD133<sup>-</sup> клітин [25].

A2B5 є поверхневим глікозидом і маркером O2-A нейрональних прогеніторних клітин. Трансплантаційні дослідження показали [26], що сумісно A2B5<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup> і A2B5<sup>+</sup>CD133<sup>-</sup> клітини здатні генерувати пухлини при трансплантації в експериментальних моделях. Припускають, що A2B5<sup>+</sup> клітини мають властивості ПСК. Дослідження Piermeier і співавт. (1993) прогностичного потенціалу A2B5<sup>+</sup> клітин при гліомах показали, що A2B5 є маркером несприятливого прогнозу розвитку гліоми [27].

Нестін – маркер філаменту, що експресується в нейрональних клітинах-попередниках у процесі розвитку і спочатку описаний

в якості маркера НСК, пізніше був ідентифікований і в СКПГМ [28]. Експресію нестину в гліомах пов'язують з диференціюванням, зростанням міграції клітин, інвазивним потенціалом та підвищенням злякисності. Наявність нестину визначається в 46% первинних пухлин ЦНС. Більш високий рівень його експресії в астроцитомах різного ступеня злякисності у порівнянні з нормальною тканиною головного мозку. В літературі не існує однозначної думки щодо експресії нестину та ступеня злякисності гліом. В більшості робіт [29, 30] продемонстровано підвищення експресії нестину при збільшенні ступеня злякисності астроцитом та показана кореляція між рівнем експресії нестину та строком виживання хворих з гліомами. Іншими авторами [31] не встановлено достовірних кореляційних зв'язків між рівнем експресії нестину, ступенем злякисності гліом та строками виживання хворих на гліоми мозку. Проте на сучасному етапі білок нестін розглядають поряд з молекулою CD133 в якості маркера при ідентифікації СКПГМ. Так, при паралельних імуногістохімічних дослідженнях пухлин гліом отримані результати вмісту CD133<sup>+</sup> та нестін-позитивних клітин близькі за значенням та розподілом. Кількість CD133<sup>+</sup> та нестін-позитивних клітин корелювала з виживаністю хворих в післяопераційному періоді.

Sox2 є одним з ключових транскрипційних факторів, який відповідає за підтримку стовбурових властивостей клітин в ембріогенезі та дорослому організмі, а також відіграє роль в формуванні нейронів та нейроглії, в канцерогенезі і розвитку гліобластом. Зниження Sox2 після ембріогенезу корелює з втратою плюрипотентності і самооновлення, а супресія Sox2 в гліомах призводить до втрати ними туморогенності [32]. Ампліфікація гену Sox2 спостерігається в 14,4% мультиформних гліобластом та 11,1% анапластичних олігодендрогліом. Встановлена позитивна кореляція між ступенем злякисності пухлин та експресією Sox2. Показано, що гіперцелюлярні та гіперпроліферативні ділянки гліобластом мають найвищу експресію Sox2. Проте в інших роботах [33, 34] хоча і продемонстровано підвищення експресії Sox2 у тканині гліом в порівнянні з нормальною тканиною мозку, не відзначається кореляції між ступенем злякисності гліом та строками виживання цих хворих і рівнем Sox2. Таким чином, на сучасному етапі досліджень не існує однозначної думки щодо прогностичного значення Sox2 при гліомах.

Подопланін є трансмембранним глікопротеїном типу муцину з мало вивченою біологічною функцією. Крім ролі в міграції та інвазії в гліомах подопланін може мати важливе значення в формуванні сфероїдів. Вважають [35], що подопланін може бути прогностичним маркером в астроцитомах високого ступеня злякисності. Mishima K. та співавт. (2008) виявили високу експресію подопланіну в 48 зразках злоякісних астроцитом і не спостерігали його експресію в астроцитомах низького ступеня злякисності.

Polysomb complex protein BMI-1 – відомий регулятор двох основних шляхів супресії пухлин. Даний білок пригнічує транскрипцію гена *INK4a* і тим самим сприяє активації циклінзалежних кіназ *Cdk2* та *Cdk4* та, відповідно, проліферації. Крім того, супресія BMI-1 в популяції CD133<sup>+</sup> клітин гліоми призводить до зменшення кількості вторинних сфер і таким чином сприяє зниженню самооновлення [36]. При дослідженні експресії BMI-1 в 62 олігодендрогліальних і 243 астроцитарних пухлинах II-IV з використанням одновимірної та і багатовимірної аналізу показано, що високий рівень експресії BMI-1 є прогностичним фактором поганої виживаності в порівнянні з низьким рівнем експресії [37].

Musashi-1 належить до родини нейральних РНК-зв'язуючих білків. Hemmati H. та співавт. (2003) показали, що Musashi-1-позитивні пухлинні клітини здатні до утворення нейросфер, що можуть самовідновлюватися і диференціюватися в різні типи клітин, тим самим припускаючи зв'язок даного білка з ПСК [38]. Було продемонстровано підвищення Musashi-1 в клітинах гліом в порівнянні з нормальною тканиною та показано кореляцію висо-

кої експресії мРНК білка зі ступенем злоякісності [39]. Встановлена кореляція між експресією Musashi-1 та проліферативним маркером BMI-1 при злоякісних гліомах [40].

Підвищення експресії іншого маркера ПСК Id1 виявлено в різних типах раку, де він бере участь у проліферації, анаплазії, інвазивності, метастазуванні та неоангіогенезі. Продемонстровано [41, 42], що нокаут TGF- $\beta$  шляху призводить до зниження експресії Id1 в гліомах, що супроводжується ростом пухлини. Припускають, що Id1 має важливе значення для підтримки росту пухлини в гліомах. Рівень експресії Id1 корелює з високим ступенем злоякісності в гліомах і дана експресія не визначається в нормальному мозку.

Oct4 експресується в плюрипотентних ембріональних стовбурових і статевих клітинах, де є регулятором самооновлення і диференціювання. Oct4 експресується в різних типах раку, включаючи рак легенів, де нокаут Oct4 підвищує чутливість до хіміотерапії і променевої терапії та сприяє збільшенню апоптозної активності. Показана експресія Oct4 в гліомах, при цьому найвищий рівень білка спостерігається у пухлинах високого ступеню злоякісності [43]. Більше 50% Oct4<sup>+</sup> клітин коекспресують маркери ПСК CD133 і нестін [44].

Слід зазначити, що СКПГМ суттєво відрізняються серед різних пухлин одного гістологічного типу і в межах однієї пухлини. На сучасному етапі виділяють 2 фенотипи СКПГМ. «Пронейральний» фенотип, що має подібність до фетальних НСК і характеризується високою експресією CD133, PDGFR $\alpha$  (рецептора тромбоцитарного фактора росту), EGFR (рецептора епідермального фактора росту), DCX (протеїну нейрональної міграції даблкортину), низькою експресією CD44, активацією генів теплового шоку, процесінгу РНК та оксидативного фосфорилування, що вказує на високу проліферативну та метаболічну активність цих клітин. СКПГМ даного фенотипу відрізняються від фетальних НСК більш вираженим проліферативним потенціалом, зниженням здатності до диференціювання та стабілізацією теломер [45].

Інший «мезенхімальний» транскрипційний профіль, подібний до НСК дорослих, що локалізуються в субвентрикулярній зоні та гіпокапі, характеризується CD133<sup>-</sup>, низькою експресією PDGFR $\alpha$ , DCX та високою експресією CD44. Експресія EGFR відмічається при даному фенотипі тільки у частини клітин. Від НСК дорослих СКПГМ відрізняються зниженням здатності до диференціювання та більш вираженою проліферативною активністю. В СКПГМ даного фенотипу спостерігається активація TGF- $\beta$  сигнального шляху, що робить клітини потенційною мішенню для анти-TGF- $\beta$  терапії.

Фенотип СКПГМ в межах однієї пухлини може різнитися в залежності від місця розташування клітин. Так, CD133<sup>+</sup> ПСК, що знаходяться в периваскулярних нішах, мають значно більшу експресію Sox2, EGFR, Vmi-1 та нестіна [46].

Таким чином, вище наведені дані свідчать, що СКПГМ та НСК мають певні однакові властивості та фенотипічні маркери, а саме: здатність до самопідтримання, можливість сфероутворення в умовах культивування *in vitro* в безсироватковому середовищі в присутності факторів росту rhEGF, rhFGF-b або B-27; експресують маркери CD133, CD44, PDGFR $\alpha$ , GFAP, нестін, Oct4, Sox-2, Misashi-1, Vmi-1. При цьому ПСКГМ, на відміну від НСК, не експресують ранні (TuJ1) та пізні (NeuN) нейрональні маркери та олігодендрогліальний маркер Olig1, а можуть набувати маркерів нейрональної, астроцитарної та олігодендрогліальної лінії лише при культивуванні та диференціюванні. Додатково, НСК, що фенотипічно охарактеризовані як CD133<sup>+</sup>CD24<sup>-</sup>CD34<sup>-</sup>CD45<sup>-</sup>, при введенні імунодефіцитним експериментальним тваринам проліферують, мігрують та диференціюються по нейрональному або гліальному типу. На протигагу СКПГМ, при трансплантації імунодефіцитним експериментальним тваринам, утворюють пухлини гістологічно ідентичні первинній пухлині, з якої вони отримані.

Підсумовуючи даний розділ, можна зробити такі узагальнення: ПСК зустрічаються у різних гістологічних видах пухлин людини

і мають певну фенотипову схожість за антигенними маркерами. В злоякісних ектодермальних пухлинах головного мозку на ПСК можуть експресуватись молекулярні маркери, що вказують на їх походження із нейральних, мезенхімальних та інших стовбурових клітин. В той же час на даному етапі досліджень не встановлено чітких фенотипічних відмінностей за молекулярними маркерами між пухлинними та нейральними стовбуровими клітинами.

## ТЕРАПЕВТИЧНІ ПІДХОДИ НАПРАВЛЕНОГО ВПЛИВУ НА ПУХЛИННІ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ

Можливість ізолювання СКПГМ дозволило не тільки активно вивчати маркери ідентифікації, антигенність, біологічні властивості, інвазивність та участь ПСК в онкогенезі, а й сприяло дослідженням їх потенційної відповіді на хіміотерапевтичні препарати, променевою терапією та розробці нових терапевтичних підходів впливу на даний тип клітин.

Дослідження, пов'язані з вивченням відповіді СКПГМ на променевою терапією, свідчать про те, що дані клітини мають підвищену резистентність до променевої терапії. Декілька механізмів можуть бути відповідальними за це явище, а саме: активація механізмів репарації ДНК, зниження пошкодження ДНК через менше утворення радикалів, активація сигнальних шляхів, що відповідають за стовбуровий фенотип.

В дослідженнях *in vitro* та *in vivo* продемонстровано, що CD133<sup>+</sup> клітини проявляють більшу стійкість до  $\gamma$ -опромінення в порівнянні з CD133<sup>-</sup> клітинами через ранню активацію механізмів клітинного контролю. В ПСК значно підвищена активність чекпойнт-кіназ Chk1 та Chk2, що призводить до зупинки клітинного циклу та увімкнення механізмів репарації ДНК. Внаслідок цього ПСК уникають апоптозу і надалі відновлюють проліферацію, що призводить до рецидиву пухлини. В роботі Jamal M. і співавт. (2012) на внутрішньомозкових ксенографтах *in vivo* відмічається переважна загибель диференційованих пухлинних клітин, та збільшення долі ПСК гліом, що проявляється збільшенням експресії стовбурових маркерів CD133, нестіну, Notch2, Sox2. Ці дані узгоджуються з даними Tamura і співавт. (2010) про збільшення в 15-20 разів кількості ПСК при рецидивах мультиформних гліобластозів після опромінення хворих на лінійному прискорювачі при сумарні дозі 50 Гр та близько 20 Гр гамма-ножем. Дана доза опромінення викликала значні зони некрозу в пухлинній тканині та порушення мікросудинної сітки в пухлині. При цьому відмічалось збереження CD133<sup>+</sup> ПСК переважно в зоні пошкоджених судин, що на думку авторів свідчить про участь ПСК не тільки в індукції пухлинного росту, а й у формуванні судин.

Для лікування гліом найбільш часто використовуються дві групи алкілюючих препаратів: похідні нітрозосечовини та темозоломід. В ряді досліджень, пов'язаних з вивченням впливу темозоломиду на СКПГМ, показано, що лікування даним препаратом супроводжується початковим зниженням сфероутворення CD133<sup>+</sup> клітин без суттєвого впливу на виживання клітин. По закінченню лікування ріст нейросфер відновлюється в більшості клітинних ліній з підвищенням кількості CD133<sup>+</sup> клітин і їх туморогенності. Додатково описано, що CD133<sup>+</sup> СКПГМ зі сферичним ростом більш резистентні в порівнянні з CD133<sup>-</sup> СКПГМ з ростом в моношарі. Механізмами, що обумовлюють резистентність СКПГМ до темозоломиду можуть бути: підвищена експресія MGMT (O-6-methylguanine-DNA methyltransferase), білка множинної медикаментозної резистентності MDR1, p53, мутації PARP. Оскільки активація різних сигнальних шляхів сприяє підтримці стовбурового фенотипу СКПГМ, то пригнічення туморогенності темозоломідом можна посилити шляхом додавання інгібіторів SHH, STAT3, IGF-1/PI3K та Notch-сигнальних шляхів. Під впливом іншого препарату BCNU (Carmustine) також виживає і проліферує популяція CD133<sup>+</sup> клітин. У даних клітин відмічають високу експресію антиапоптозних генів і генів хіміорезистентності: BCRP, MDR, MRP і MGMT.

У зв'язку з наявністю резистентності СКПГМ до хіміопрепаратів та опромінення проводяться дослідження, пов'язані з використанням різноманітних препаратів, які в більшості орієнтовані на молекулярні шляхи оновлення та регуляції ПСК та антитіл або препаратів на основі антитіл до поверхневих рецепторів даних клітин.

Першим кроком в цьому напрямку є отримання антитіл до поверхневих маркерів ПСК. Прикладом такого підходу може бути вплив на CD44 за допомогою специфічного антитіла P245, що призводить до блокування росту ксенотрансплантатів раку молочної залози людини [48]. Крім того, лікування P245 ксенотрансплантатів базальноподібного раку молочної залози під час ремісії пухлини знижує частоту рецидивів. За допомогою пептиду Sox6 (антиген, що експресований на поверхні СКПГМ) індукували специфічні Т-лімфоцити, які ефективно лізували стовбурові клітини гліобластом.

При використанні антитіл до молекули CD133 отримані неоднозначні результати при гліомах. Використання моноклонального антитіла до ізоформи AC-133-2 молекули CD133 показало стимулюючу дію на пухлинні клітини в тестах *in vitro* та посилення проліферації CD133<sup>+</sup> клітин [49]. В зв'язку з цим вважається перспективним створення генно-інженерних конструкцій з моноклональних антитіл проти ПСК, які здатні блокувати їх проліферацію.

Іншим напрямком в стратегії лікування онкохворих в контексті існування ПСК є використання конституційної експресії різних факторів сигнальної трансдукції, зокрема сигнального шляху Notch. Notch-сигнальний шлях має дуже велике значення в міжклітинних взаємодіях під час ембріонального розвитку, процесах проліферації, диференціації. Цей шлях сигнальної трансдукції також відіграє важливу роль у процесах імунної регуляції, виживанні нейрональних стовбурових клітин, а також залученні в розвиток пухлин головного мозку. Відмічено високий кореляційний зв'язок між експресією Notch-1 і його лігандами, такими як Delta-like-1, Jagged-1 та високим ступенем злоякісності гліом [50, 51]. Попередніми результатами показано потенційну регуляцію ПСК Notch-сигнальним шляхом в медулобластомах. Крім того, білки Notch асоціюються з ПСК, що експресують маркер нейрональних стовбурових клітин нестін при гліомах. Нейрогенезування збільшується в клітинних лініях гліом при активації Notch- сигнального шляху [52].

На даний момент розробляються різні препарати, що блокують Notch-сигнальний шлях. Зокрема, доклінічну фазу випробувань проходять препарати, що інгібують  $\gamma$ -секретази – RO4929097 (Roche), MK0752 (Merck); препарати моноклональних антитіл до різних факторів сигнального шляху Notch – OMP21M18, який являє собою моноклональні антитіла проти ліганду Notch рецептора DLL4. Даний препарат здатний надавати інтерферуючу дію, конкуруючи з Notch рецептором за ліганд.

Іншим важливим сигнальним каскадом, підвищена активність якого виявлена в стовбурових клітинах і їх злоякісних аналогах, є Hedgehog. Цей сигнальний шлях має велике значення в регуляції ембріогенезу, розвитку ЦНС, а також в проліферації та диференціації нейрональних стовбурових клітин [53, 54]. Аберація Hedgehog-шляху корелює з розвитком медулобластоми [55]. Крім того, Hedgehog сигнальний шлях бере участь у самооновленні ПСК і туморогенності при гліомах [56]. Збільшення апоптозу гліом спостерігалось при обробці інгібітором циклонамін або трансдукцією інтерферентної РНК, яка інгібує проліферацію і самовідновлення ПСК гліом.

Важливо відзначити, що спільне використання інгібування Hedgehog і традиційних хіміопрепаратів, зокрема темозоломід, збільшувало загибель СКПГМ і зменшувало проліферацію пухлинних клітин [56]. Кілька досліджень показали, що лікування циклонамін не тільки зменшує прогресування пухлини за рахунок впливу на СКПГМ, але й збільшує їх чутливість до променевої терапії [57]. Вищенаведені дані вказують, що шлях Hedgehog є критичним для СКПГМ та інгібіторів, які націлені на цей шлях. На даному етапі стадію клінічних випробувань проходять препарати BMS833923, XL139, які є низькомолекулярними інгібіторами рецептора Smo, що бере участь в каскаді процесів у зв'язку з Hedgehog сигнальним шляхом. Крім інгібіторів рецептора Smo проходять дослідження препаратів, що блокують дію факторів Hedgehog.

Wnt-сигнальний шлях регулює проліферацію стовбурових і клітин-прогеніторів фетальної вентрикулярної зони, постнатальної субвентрикулярної зони та гіпокампу. [58]. Wnt-сигнальний шлях також відіграє важливу роль у розвитку та прогресуванні медулобластоми і в деяких гліомах. Виявлена підвищена експресія деяких членів родини Wnt в астроцитомі. Експериментами *in vitro* та *in vivo* з використанням siRNA для Wnt2 і бета-катеніну продемонстрована інгібіція клітинної проліферації та інвазії, а також гальмування розвитку пухлини. На додаток, пригнічення Wnt2 і бета-катеніну асоціюється зі зниженням PI3K/P-Akt експресії, що пов'язано із взаємодією між Wnt/ $\beta$ -катенін і PI3K/Akt сигнальними каскадами [59]. Експресія CD133 і Wnt-1 збільшується в стовбурових клітинах, виділених з гліобластом. Підвищення Axin, негативного регулятора передачі сигналів Wnt/ $\beta$ -катенін, значно інгібує проліферацію клітин гліоми. Підвищення Wnt5a при імуногістохімічному дослідженні виявлено в мультиформній гліобластомі, в порівнянні із зразками нормальної тканини або астроцитомою низького ступеня злоякісності. Підвищена експресія Wnt5a виявлена при проліферації в культурі клітинної лінії U87MG. На противагу цьому, пригнічення експресії Wnt5a в результаті інтерференції РНК зменшує проліферацію цієї культури і знижує туморогенність *in vivo* [60].

## ЗАКЛЮЧЕННЯ

Таким чином, на сучасному етапі в літературі описана присутність в тканині внутрішньомозкових пухлин клітин, а саме пухлинних стовбурових клітин головного мозку, здатних до самовідтворення та самопідтримки; морфологічно ідентичних нейросферам, що утворюються нормальними НСК; здатних при введенні імунодефіцитним експериментальним тваринам викликати утворення пухлини гістологічно ідентичної первинній пухлині, з якої вони отримані. Ці клітини експресують на своїй поверхні значну кількість антигенів, включно з CD133, CD105, CD90, CD15, Napog, Oct3/4, CXCR4 (CD184), NF, GAPDH, а також антигенів НСК. При цьому вони володіють підвищеною інвазією, радіо- та хіміорезистентністю. Подальше вивчення пухлинних стовбурових клітин головного мозку дасть змогу з'ясувати їх участь в розвитку і рецидивуванні злоякісних пухлин мозку та розробити методи направленої терапії, що буде сприяти підвищенню ефективності стандартної терапії нейроонкологічних хворих.

Інтерес до вивчення стовбурових клітин пухлин головного мозку, як і пухлинних стовбурових клітин інших органів та тканин, з роками не зменшується і, як відмічалось вище, дослідження природи ПСК проводиться в різних напрямках, а саме: визначення рівня ПСК в пухлинах різного походження та прогнозування перебігу онкопроцесу на основі ПСК; вивчення походження та біологічної активності ПСК; визначення трансформації та змін у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах, які забезпечують проліферацію та апоптоз цих клітин. Широко ведеться пошук нових засобів блокування та активації ПСК, підвищення їх чутливості до дії променевої терапії тощо. Перелік напрямків можна було б продовжити, але сьогодні, на жаль, поки що отримані новітні дані не мають свого клінічного використання.

## ЗАКЛЮЧЕННЯ

На даному етапі дослідження ПСК, особливо ПСК злюкисних пухлин головного мозку, таких як гліобластоми та медулобластоми, принциповими є отримання відповіді на кілька наступних питань:

1. *Стовбурові клітини пухлин головного мозку – це видозмінені нормальні нейральні стовбурові клітини, чи це зворотнє мутаційне диференціювання зрілих гліальних клітин під дією канцерогенів та вірусів до рівня стовбурових попередників, як це пропонує гіпотеза Junier M. та Sharif A.? Можливо, ці два механізми діють одночасно.*
2. *Наявність значної кількості різних фенотипічних мембранних та внутрішньоклітинних маркерів, представлених як на СКПГМ, так і НСК, визначає необхідність виділення специфічних маркерів, характерних тільки для ПСК і тільки для НСК, що дозволить в подальшому не лише їх розпізнати, а й отримати на основі моноклональних антитіл специфічні препарати проти цих клітин.*
3. *Необхідно визначити один чи два основних внутрішньоклітинних сигнальних шляхів у ПСК, що відповідають за проліферацію та радіорезистентність, які можуть стати об'єктом поглибленого дослідження.*

Вирішення цих питань дозволить не лише поглибити теоретичні питання онкогенезу та уявлення про розвиток злюкисних пухлин, а й в практичному плані значно розширити лікувальні можливості злюкисних пухлин, в т.ч. і злюкисних пухлин головного мозку.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Bonnet D. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell [Text] / D. Bonnet, J. F. Dick // Nat Med. – 1997. – Vol. 3, №7. – P. 730–737.
2. Reya T. Stem cells, cancer, and cancer stem cells [Text] / T. Reya, S. J. Morrison, I. L. Clarke // Nature. – 2001. – Vol. 414. – P. 105–111.
3. Clevers H. The cancer stem cell: Premises, promises and challenges [Text] / H. Clevers // Nat. Med. 2011. – Vol. 17. – P. 313–319.
4. Suetsugu A. Characterization of CD133<sup>+</sup> hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells [Text] / A. Suetsugu, M. Nagaki, H. Aoki // Biochem Biophys Res Commun. – 2006. – Vol. 29, № 4. – P. 820–824.
5. Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme [Text] / X. Yuan, J. Curtin., Y. Xiong, et al. // Oncogene. – 2004. – Vol. 16, № 23. – P. 9392–9400.
6. Vescovi A. L. Brain tumour stem cells [Text] / A. L. Vescovi, R. Gall, B. A. Reynolds // Nat. Rev. Cancer. – 2006. – Vol. 6. – P. 425–436.
7. Dalerba P. Cancer stem cells: Models and concepts [Text] / P. Dalerba, R. W. Cho, M.F. Clarke // Ann. Rev. Med. – 2007. – Vol. 58. – P. 267–284.
8. Wicha M. S. Cancer stem cells and metastasis: Lethal seeds [Text] / M. S. Wicha // Clin. Cancer. Res. – 2006. – Vol. 12. – P. 5606–5607.
9. Shiras A. Spontaneous transformation of human adult nontumorigenic stem cells to cancer stem cells is driven by genomic instability in a human model of glioblastoma [Text] / A. Shiras, S.T. Chettiar, V. Shepal // Stem Cells. – 2007. – Vol. 25, № 6. – P. 1478–1489.
10. Masui K. Glial progenitors in the brainstem give rise to malignant gliomas by platelet-derived growth factor stimulation [Text] / K. Masui, S.O. Suzuki, R. Torisu // Glia. – 2010. – Vol. 58, № 9. – P. 1050–1065.
11. Junier M. P. Instability of cell phenotype and tumor initiating cells in gliomas [Text] / M. P. Junier, A. Sharif // Biol. Aujordhui (French). – 2011. – Vol. 205, № 1. – P. 63–74.
12. Galli R. Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma [Text] / R. Galli, E. Binda, U. Orfanelli // Cancer Res. – 2004. – Vol. 1, № 19. – P. 7011–7021.
13. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors [Text] / S. K. Singh, I. D. Clarke, M. Terasaki, et al. // Cancer Res. – 2003. – Vol. 63. – P. 5821–5828.
14. Nestin and CD-133: valuable stem cell-specific markers for determining clinical outcome of glioma patients [Text] / M. Zhang, T. Song, L. Yang, et al. // J. Exp Clin Cancer Res. – 2008. – Vol. 24, № 27. – P. 85–92.
15. Pallini R. L. Expression of the stem cell marker CD133 in recurrent glioblastoma and its value for prognosis [Text] / R. L. Pallini, L. Ricci-Vitiani, N. Montano // Cancer. – 2011. – Vol. 117, № 1. – P. 162–174.
16. Stem cell marker CD133 affects clinical outcome in glioma patients [Text] / F. Zeppernick, R. Ahmadi, B. Campos, et al. // Clin Cancer Res. – 2008. – Vol. 14. – P. 123–129.
17. Expression of stem cell markers in human astrocytomas of different WHO grades [Text] / Y. H. Ma, R. Mentlein, F. Knerlich, et al. // J. Neurooncol. – 2008. – Vol. 86. – P. 31–45.
18. The presence of stem cell marker-expressing cells is not prognostically significant in glioblastomas [Text] / K. J. Kim, K. H. Lee, H. S. Kim, et al. // Neuropathology – 2011. – Vol. 31. – P. 494–502.
19. Lee J. Tumor stem cells derived from glioblastomas cultured in bFGF and EGF more closely mirror the phenotype and genotype of primary tumors than do serum-cultured cell lines [Text] // J. Lee, S. Kotliarova, Y. Kotliarov, et al. // Cancer Cell. – 2006. – Vol. 9. – P. 391–403.
20. Bo Qio. A simplified and modified procedure to culture brain glioma stem cells from clinical specimens [Text] / Bo Qio, D. Zhang, J. Tao // Oncol Lett. – 2012. – Vol. 1. – P. 50–54.
21. Beier D. CD133<sup>+</sup> and CD133<sup>-</sup> glioblastoma-derived cancer stem cells show differential growth characteristics and molecular profiles [Text] / D. Beier, P. Hau, M. Proescholdt // Cancer Res. – 2007. – Vol. 17, № 9. – P. 4010–4015.
22. Choung Y. K. Cryopreservation of neurospheres derived from human glioblastoma multiforme [Text] / Y. K. Choung, T. B. Toh, N. Zaiden // Stem Cells – 2009. – Vol. 27, № 1. – P. 29–39.
23. Identification of CD15 as a marker for tumor-propagating cells in a mouse model of medulloblastoma [Text] // T. A. Read, M. P. Fogarty, S. L. Markant, et al. // Cancer Cell. – 2009. – Vol. 15. – P. 135–147.
24. SSEA-1 is an enrichment marker for tumor-initiating cells in human glioblastoma [Text] / M. J. Son, K. Woolard, D. H. Nam, et al. // Cell Stem Cell. – 2009. – Vol. 4. – P. 440–452.
25. CD90 is identified as a marker for cancer stem cells in primary high-grade gliomas using tissue microarrays [Text] / J. He, Y. Liu, T. Zhu, et al. // Mol. Cell Proteomics. – 2010. – Vol. 11, № 6. – M111.010744.
26. A2B5 cells from human glioblastoma have cancer stem cell properties [Text] / A. Tchoghandjian, N. Baeza, C. Colin, et al. // Brain Pathol. – 2010. – Vol. 20. – P. 211–221.
27. Piepmeier J.M. Low-grade astrocytomas may arise from different astrocyte lineages [Text] / J. M. Piepmeier, I. Fried, R. Makuch // Neurosurgery. – 1993. – Vol. 33. – P. 627–632.

28. The prognostic value of nestin expression in newly diagnosed glioblastoma: report from the Radiation Therapy Oncology Group [Text] / P. Chinnaiyan, M. Wang, A. M. Rojiani, et al. // Radiat Oncol. – 2008. – Vol. 3. – P. 32.
29. Association of stem cell-related markers and survival in astrocytic gliomas [Text] / F. Wan, C. Herold-Mende, B. Campos, et al. // Biomarker. – 2011. – Vol. 16. – P. 136–143.
30. Nestin expression in brain tumors: its utility for pathological diagnosis and correlation with the prognosis of high-grade gliomas [Text] / H. Arai, H. Ikota, K. Sugawara, et al. // Brain Tumor Pathol. – 2012. – Vol. 29. – P. 160–167.
31. The presence of stem cell marker-expressing cells is not prognostically significant in glioblastomas [Text] / K. J. Kim, K. H. Lee, H. S. Kim, et al. // Neuropathology. – 2011. – Vol. 31. – P. 494–502.
32. SOX2 silencing in glioblastoma tumor-initiating cells causes stop of proliferation and loss of tumorigenicity [Text] / R. M. Gangemi, F. Griffero, D. Marubbi, et al. // Stem Cells. – 2009. – Vol. 27. – P. 40–48.
33. Sox2 expression in brain tumors: a reflection of the neuroglial differentiation pathway [Text] / J. H. Phi, S. H. Park, S. K. Kim, et al. // Am J Surg Pathol. – 2008. – Vol. 32. – P. 103–112.
34. Association of stem cell-related markers and survival in astrocytic gliomas [Text] / F. Wan, C. Herold-Mende, B. Campos, et al. // Biomarkers. – 2011. – Vol. 16. – P. 136–143.
35. Increased expression of podoplanin in malignant astrocytic tumors as a novel molecular marker of malignant progression [Text] / K. Mishima, Y. Kato, M. K. Kaneko, et al. // Acta Neuropathol. – 2006. – Vol. 111. – P. 483–488.
36. Bmi1 marks intermediate precursors during differentiation of human brain tumor initiating cells [Text] / C. Venugopal, N. Li, X. Wang, et al. // Stem Cell Res. – 2012. – Vol. 8. – P. 141–153.
37. Stem cell protein BMI-1 is an independent marker for poor prognosis in oligodendroglial tumour [Text] / V. Hayry, O. Tynninen, H.K. Haapasalo, et al. // J. Neuropathol Appl Neurobiol. – 2008. – Vol. 34, № 5. – P. 555–563.
38. Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors [Text] / H. D. Hemmati, I. Nakano, J. A. Lazareff, et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2003. – Vol. 100, № 25. – P. 15178–15183.
39. Expression of stem cell markers in human astrocytomas of different WHO grades [Text] / Y. H. Ma, R. Mentlein, F. Knerlich, et al. // J Neurooncol. – 2008. – Vol. 86. – P. 31–45.
40. Musashi1, an evolutionarily conserved neural RNA-binding protein, is a versatile marker of human glioma cells in determining their cellular origin, malignancy, and proliferative activity [Text] / Y. Kanemura, K. Mori, S. Sakakibara, et al. // Differentiation – 2001. – Vol. 68. – P. 141–152.
41. Iavarone A. ID proteins as targets in cancer and tools in neurobiology [Text] / A. Iavarone, A. Lasorella // Trends Mol Med. – 2006. – Vol. 12. – P. 588–594.
42. Upregulation of SOX2, NOTCH1, and ID1 in supratentorial primitive neuroectodermal tumors: a distinct differentiation pattern from that of medulloblastomas [Text] / J. H. Phi, J. H. Kim, K.M. Eun, et al. // J Neurosurg Pediatr. – 2010. – Vol. 5, № 6. – P. 608–614.
43. Oct4 is expressed in human gliomas and promotes colony formation in glioma cells [Text] / Z. Du, D. Jia, S. Liu, et al. // Glia. – 2009. – Vol. 57. – P. 724–733.
44. Expression profile of embryonic stem cell-associated genes Oct4, Sox2 and Nanog in human gliomas [Text] / Y. L. Guo, S. Liu, P. Wang, et al. // Histopathology – 2011. – Vol. 59, № 4. – P. 763–775.
45. Transcriptional profiles of CD133+ and CD133- glioblastoma-derived cancer stem cell lines suggest different cell of origin. Cancer stem cell lines suggest different cell of origin [Text] / C. Lottaz, D. Beier, K. Mayer, et al. // Cancer Res. – 2010. – Vol. 70, № 5. – P. 2030–2040.
46. CD 133+ niches and single in glioblastoma have different phenotypes [Text] / K. Christen, H. D. Shirder, B. W. Kristensen, et al. // J. Neurooncol. – 2011. – Vol. 104, № 1. – P. 129–143.
47. The brain microenvironment preferentially enhances the radioresistance of CD 133(+) glioblastoma stem-like [Text] / M. Jamal, B. N. Rath, P. Tsang, et al. // Neoplasia. – 2012. – Vol. 14. – P. 150–158.
48. He J. Targeting glioblastoma stem cells: cell surface markers [Text] / J. He, Y. Liu, D. Lubman // Curr Med Chem. – 2012. – Vol. 19, № 35. – P. 6050–6055.
49. Лисяний Н. И. Иммунология и иммунотерапия злокачественных глиом головного мозга [Текст] / Лисяний Н. И. // Киев: Інтерсервіс, 2011. – 240с.
50. Expression of Notch-1 and its ligands, Delta-like-1 and Jagged-1, is critical for glioma cell survival and proliferation [Text] / B. W. Purow, R. M. Haque, M. W. Noel, et al. // Cancer Res. – 2005. – Vol. 65, № 6. – P. 2353–2563.
51. Notch1 and notch2 have opposite effects on embryonal brain tumor growth [Text] / X. Fan, I. Mikolaenko, I. Elhassan, et al. // Cancer Res. – 2004. – Vol. 64, № 21. – P. 7787–7793.
52. Notch activation promotes cell proliferation and the formation of neural stem cell-like colonies in human glioma cells [Text] / X. P. Zhang, G. Zheng, L. Zou, et al. // Mol Cell Biochem. – 2008. – Vol. 307. – P. 101–108.
53. Drosophila perlecan modulates FGF and hedgehog signals to activate neural stem cell division [Text] / Y. Park, C. Rangel, M. M. Reynolds, et al. // Dev Bio. – 2003. – Vol. 253, № 2. – P. 247–257.
54. Gli activity correlates with tumor grade in platelet-derived growth factor-induced gliomas [Text] / O. J. Becher, D. Hambardzumyan, E. I. Fomchenko, et al. // Cancer Res. – 2008. – Vol. 68, № 7. – P. 2241–2249.
55. The Sonic Hedgehog-Gli pathway regulates dorsal brain growth and tumorigenesis [Text] / N. Dahmane, P. Sanchez, Y. Gitton, et al. // Development. – 2001. – Vol. 128. – P. 5201–5212.
56. HEDGEHOG-GLI1 signaling regulates human glioma growth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity [Text] / V. Clement, P. Sanchez, N. Tribolet, et al. // Curr Biol: CB – 2007. – Vol. 17. – P. 165–172.
57. Cyclopamine-mediated hedgehog pathway inhibition depletes stem-like cancer cells in glioblastoma [Text] / E. E. Bar, A. Chaudhry, A. Lin, et al. // Stem Cells. – 2007. – Vol. 25, № 10. – P. 2524–2533.
58. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis [Text] / D. C. Lie, S. A. Colamarino, H. J. Song, et al. // Nature. – 2005. – Vol. 437, № 7063. – P. 1370–1375.
59. Downregulation of Wnt2 and betacatenin by siRNA suppresses malignant glioma cell growth [Text] / P. Pu, Z. Zhang, C. Kang, et al. // Cancer Gene Ther. – 2009. – Vol. 16, № 4. – P. 351–361.
60. Role of Wnt5a in the proliferation of human glioblastoma cells [Text] / J. M. Yu, E. S. Jun, J. S. Jung, et al. // Cancer Lett. – 2007. – Vol. 257. – P. 172–181.



СТАТТЯ НА САЙТІ  
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автори підтверджують відсутність можливих конфліктів інтересів.

Надійшла до редакції 22.09.2015 р.

Прийнята до друку 13.11.2015 р.