

Опухолевые стволовые клетки: меланома

Рукуша Т.Г., Аксененко М.Б., Фефелова Ю.А.

ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, 660022, г. Красноярск, Россия

Концепция опухолевых стволовых клеток сформировалась около двух десятилетий назад и с того времени их идентификация и функционирование признаны приоритетными для многих исследований, в частности в проблеме развития резистентности к лучевой и химиотерапии, рецидивирования новообразований. Считается, что опухолевые стволовые клетки подобно нормальным стволовым клеткам обладают способностью к асимметричному делению, но также дифференцировке в нестволовые опухолевые клетки. Опухолевые стволовые клетки являются одним из факторов, обуславливающих гетерогенность опухолевой ткани. В данной работе анализируются особенности биологии опухолевых стволовых клеток в целом и опухолевых стволовых клеток меланомы, их маркеры и методы идентификации, значение для клинической онкологии.

Ключевые слова: опухолевые стволовые клетки; меланома; эпителиально-мезенхимальный переход; ниши стволовых клеток.

Для цитирования: Рукша Т.Г., Аксененко М.Б., Фефелова Ю.А. Опухолевые стволовые клетки: меланома. Российский журнал кожных и венерических болезней. 2015; 18(4): 12-16.

TUMOR STEM CELLS: MELANOMA

Ruksha T.G., Akseenenko M.B., Fefelova Yu.A.

V.F. Voido-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, 660022, Krasnoyarsk, Russia

The concept of tumor stem cells has been formulated about two decades ago, and their identification and functioning are now a priority in many studies, for example, of radio- and chemotherapy resistance and of tumor relapses. It is assumed that tumor stem cells, like normal stem cells, are capable of asymmetrical division, in addition, they can differentiate into other than tumor stem cells. Tumor stem cells are one of the factors responsible for tumor tissue heterogeneity. We analyze the biology of tumor stem cells in general and of melanoma in particular, their markers, methods for identification of these cells, and their significance for clinical oncology.

Key words: tumor stem cells; melanoma; epithelial mesenchymal transition; stem cell niche.

Citation: Ruksha T.G., Akseenenko M.B., Fefelova Yu.A. Tumor stem cells: Melanoma. *Rossiyskiy zhurnal kozhnykh i venericheskikh bolezney*. 2015; 18(4): 12-16. (in Russian)

Стволовые клетки характеризуются способностью к дифференцировке в различные виды клеток и в то же время могут длительно существовать и самообновляться, оставаясь в недифференцированном состоянии. Стволовые клетки можно разделить на несколько видов. *Тотипотентные*, которые могут дифференцироваться в клетки эмбриональных и экстраэмбриональных тканей, *плюрипотентные* – формировать только эмбриональные ткани (экто-, мезо- и энтодерму), *мультипотентные* – дифференцироваться в ограниченное число различных типов клеток, что зависит от уровня предшествующей дифференцировки [1]. Важно отметить, что стволовые клетки могут быть получены из других типов дифференцированных клеток посредством перепрограммирования. Замечательным в этом плане является

эксперимент К. Takahashi и S. Yamanaka [2], показавший способность перепрограммирования зрелых мышечных фибробластов в так называемые индуцированные плюрипотентные стволовые клетки благодаря изменению экспрессии четырех генов – *Oct-3/4*, *Sox2*, *c-Myc*, *KLF4*.

Опухолевые стволовые клетки

Подобно нормальным тканям, обладающим способностью к регенерации опухоли имеют иерархическую структуру организации и опухолевые стволовые клетки (ОСК) как и нормальные стволовые клетки, имеют свои структурные и функциональные особенности. В первую очередь ОСК могут являться родоначальниками опухолевых клеток любого типа, присутствующих в данной опухоли, они обладают способностью к самообновлению, а также генерации нестволовых опухолевых клеток, которые составляют основу опухолевого очага [3]. ОСК представляют не только фундаментальный, но и клинический интерес в связи с тем, что с их функционированием связывают высокую летальность пациентов от злокачественных новообразований, развитие рецидивов опухоли, а также ее резистентность к лучевой и химиотерапии.

Сведения об авторах:

Рукша Татьяна Геннадьевна, доктор мед. наук (tatyana_ruksha@mail.ru); Аксененко Мария Борисовна, кандидат мед. наук (akseenenko_mariya@mail.ru); Фефелова Юлия Анатольевна, доктор биол. наук, доцент (fefelovaja@mail.ru).

Corresponding author:

Ruksha Tatiana, MD, PhD, DSc (tatyana_ruksha@mail.ru).

Р. Вирхов еще в середине XIX века писал, что некоторые виды опухолей могут происходить из эмбриональных клеток. Идентификация и функционирование ОСК впервые были рассмотрены в работах G. Pierce и S. Speers [4] и в дальнейшем подтверждены D. Bonnet и J. Dick [5], показавших, что единичная клетка остроуго миелолейкоза, экспрессирующая маркеры стволовых клеток, может дать начало развитию генерализованной опухоли при трансплантации *in vivo*.

Таким образом, ОСК подобны нормальной стволовой клетке существуют в «спящем» состоянии большую часть времени и только иногда входят в клеточный цикл для самообновления и дифференцировки с целью дальнейшего увеличения опухолевой массы [6]. Известно, что ткань опухоли гетерогенна и включает клетки, которые могут характеризоваться генетическими и эпигенетическими различиями в пределах одной опухоли, в том числе на разных этапах ее развития [7]. Возможно, что ОСК происходят из нормальных стволовых клеток, подвергшихся трансформации генома и/или эпигенетической модификации в результате мутаций или воздействия неблагоприятных факторов внешней среды. С другой стороны, существуют предположения о пластичности опухолевых клеток, благодаря которой может происходить их дедифференцировка в ОСК [8]. Согласно стохастической модели опухоли, все опухолевые клетки эквивалентны друг другу, но их дальнейшая судьба регулируется внутренними сигналами, а также воздействием факторов внешней среды. Дочерние клетки обладают свойством стволовых клеток. В иерархической модели ОСК биологически различны, могут воспроизводить дочерние клетки, которые не имеют способности к самообновлению [9].

Сомнения в иерархической структуре организации опухоли возникли при исследовании стволовых клеток меланомы, когда было показано, что состояние опухолевого очага не статично: по крайней мере некоторые опухолевые клетки могут приобретать черты стволовых клеток под воздействием микроокружения, физических и химических факторов. В этой связи эпителиально-мезенхимальный переход, являющийся важным этапом при развитии инвазивных качеств опухолевых клеток, их подвижности, что составляет основу формирования метастазирования, также может рассматриваться как процесс изменения статуса опухолевых клеток, изменения экспрессии на их поверхности маркеров ОСК, приобретения черт, свойственных последним [10].

Маркеры стволовых клеток

Вопрос о маркерах стволовых клеток не является однозначным на сегодняшний день. Вместе с тем идентификация ОСК важна не только для экспериментальной онкологии, но и для целевого терапевтического воздействия на опухолевую популяцию стволовых клеток. Многие маркеры ОСК являются белками, расположенными на поверхности клетки, которые позволяют выделять популяцию ОСК при помощи флуоресцентной микроскопии, иммуногистохимических методов. При этом данные белки зачастую не имеют никакого отношения к биологии

стволовой клетки. Дополнительные трудности заключаются в том, что экспрессия данных маркеров не является стабильной и клетки, положительные или отрицательные по отношению к определенному маркеру, могут в дальнейшем быть предшественниками как положительных, так и отрицательных дочерних клеток [11]. Кроме того, маркеры могут не быть уникальными для какого-то одного типа, а выявляться и в других типах клеток. Примерами таких молекул могут являться такие белки, как CD44, CD24, CD20, которые были идентифицированы в различных типах опухолевых клеточных линий и биоптатах пациентов наблюдали ко-экспрессию ОСК и «стандартных» маркеров той или иной опухоли.

Первыми были охарактеризованы ОСК в солидной опухоли рака молочной железы. Эти клетки экспрессировали CD44, но были отрицательны для CD24 [12]. Аналогичные данные были получены при других солидных опухолях, таких как рак головного мозга или кишечника [13]. CD20-положительные клетки обнаружены и на В-лимфоцитах здоровых людей, и в стволовых клетках меланомы, что требует их дальнейшего изучения как предполагаемого маркера стволовых клеток меланомы и возможная терапевтическая мишень [14]. В эксперименте установлено, что при введении мышам с меланомой кожи CD20 экспрессирующих стволовых клеток меланомы кожи, полученных от больных меланомой кожи, у животных наблюдался цитотоксический эффект и снижение количества рецидивов на экспериментальной модели меланомы кожи [15].

Можно выделить несколько групп маркеров ОСК [16]:

- белки, расположенные на поверхности клетки (CD133, IL-3 γ , CD184, EpCAM);
- компоненты сигнальных путей, связанных со способностью клетки к самообновлению (Hedgehog, Notch, Wnt/ β -катенин, BMI, BM1, PTEN);
- структурные/функциональные компоненты ниш стволовых клеток;
- белки, участвующие в системах детоксикации (ABC-транспортёры, альдегиддегидрогеназа);
- теломераза, а также факторы, связанные со старением клетки;
- онкогены и онкосупрессоры;
- отдельные виды микроРНК.

CD133, известный также как промиелин-1, является мембранным белком. В норме он выявлен на поверхности незрелых кроветворных и стволовых клеток нервной ткани [17], а также в различных типах опухолей, включая меланому [18]. Выявлено, что CD133 экспрессирующие клетки обладают мультипотентностью и способностью к самообновлению, а также могут инициировать опухолевый рост [19]. Ингибирование экспрессии CD133 в меланоме приводит к снижению роста опухолевых клеток и склонности к метастазированию новообразования [20].

Представители семейства транспортных белков аденозинтрифосфата (АТФ) также были выявлены в стволовых клетках меланомы. Данная группа белков гидролизует АТФ для транспортировки некоторых субстратов [21]. Высокая экспрессия данных моле-

кул при различных видах опухолей и, в частности, при меланоме кожи может способствовать формированию у данной группы пациентов множественной лекарственной устойчивости в связи с возможной модуляцией процесса захвата клетками противоопухолевых препаратов. В частности, эти белки могут ограничивать всасывание, распределение и проникновение вемурафениба, препарата для лечения меланомы кожи, ассоциированной с мутацией онкогена *BRAF* [22].

В стволовых клетках меланомы была описана экспрессия CD271, характеризующаяся низкой аффинностью к рецепторам фактора роста нервов (NGFR). Повышенные уровни CD271 ассоциированы с перинеуральной инвазией и миграцией клеток меланомы. Доказано, что поведение CD271-положительных клеток аналогично опухолевым стволовым клеткам [23].

Методы анализа функционирования опухолевых стволовых клеток

Использование ксенотрансплантации, т.е. трансплантации отдельных ОСК модельному животному, является «золотым» стандартом для исследования ОСК, но при использовании данной модели не поддерживается естественная среда для ОСК. Стволовые клетки в таком случае в той или иной степени попадают под влияние клеток иммунной системы животного. Многие из этих исследований используют мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом – SCID или NOD со спонтанно развивающимся сахарным диабетом, но без ожирения (модель, напоминающая сахарный диабет 1-го типа у людей) [24, 25].

Некоторые из исследований используют матригель для трансплантации опухолей, представляющий собой вещество, которое может способствовать образованию и развитию опухолей [26]. В этой модели влияние на биологическое поведение ОСК могут оказывать различия в методах очистки клеток, например тип фермента (трипсин или коллагеназа), концентрация данных ферментов и продолжительность воздействия им.

Имеются ряд ограничений для применения моделей для изучения стволовых клеток меланомы. Одной из главных проблем является наличие иммунологического барьера для трансплантации ОСК лабораторным животным. Одним из способов преодоления данной проблемы является использование иммунодефицитных животных, применение аутологичных стволовых клеток, а также десенсибилизация организма реципиента стволовыми ксеноклетками [27]. Таким образом, ныне существующие системы для ксенотрансплантации обладают рядом недостатков. Вместе с тем в настоящее время существуют несколько трансгенных моделей меланомы, которые напоминают по характеру течения, прогрессии и метастазирования модель меланомы человека [28, 29].

Стволовые клетки меланоцитов

Меланоциты происходят из плюрипотентных клеток нервного гребня как непигментированные мела-

нобласты [30, 31]. Далее происходит их миграция в дорсолатеральном направлении с последующим распределением меланобластов в базальном слое эпидермиса и волосяных фолликулах [32]. Меланобласты, достигающие эпидермиса, дифференцируются в пигментобразующие меланоциты, после чего происходит дифференцировка на MITF-положительные и MITF-отрицательные типы. Стволовые клетки меланоцитов способны супрессировать Wnt-сигнальный каскад и увеличивать экспрессию генов *TGF-β* сигнального пути [33]. В отличие от стволовых клеток меланоцитов, дифференцированные меланоциты производят меланин в специальных органоидах-меланосомах, которые передаются через дендритные отростки этих клеток до соседних кератиноцитов, где они защищают ядра клеток от мутационного действия ультрафиолетового излучения.

Для каждого цикла роста волос и развития новых волосяных фолликулов необходима активация стволовых клеток меланоцитов и дальнейшая дифференцировка меланоцитов в луковице волоса. Потеря стволовых клеток меланоцитов или отсутствие их активации может приводить к поседению и выпадению волос [34]. Wnt β -катенин сигнальный механизм является не только одним из ключевых факторов в развитии новых волосяных фолликулов, но и включен в процесс активации стволовых клеток меланоцитов. Кроме того, Wnt β -катенин – сигнальный путь регулирует экспрессию MITF [35]. В свою очередь β -катенин взаимодействует непосредственно с MITF, модулируя тем самым регуляцию его транскрипции [30]. К другим регуляторам стволовых клеток меланоцитов относится трансформирующий фактор- β (TGF- β) – сигнальная молекула с широким спектром мишеней, включающих MITF, PAX3, тирозиназу [36].

У стволовых клеток меланоцитов имеются определенные качества, которые делают их очень привлекательной моделью для изучения стволовых клеток. Во-первых, они могут быть получены из кожи относительно безинвазивным способом. В коже стволовые клетки расположены в пределах определенной анатомической ниши, тем самым облегчая их поиск и выделение. Во-вторых, экспансия и дифференцировка дочерних клеток тесно связаны с жизненным циклом роста волос. Стволовые клетки меланоцитов проникают в волосяной фолликул и играют важную роль в циклических изменениях в волосяных фолликулах. Таким образом, при ингибировании стволовых клеток может уменьшаться пролиферативная активность меланоцитов [37]. Помимо этого, дисфункция данной группы клеток легко идентифицируется через дефекты в пигментации. Например, Vcl-дефицитные состояния, приводящие к активации апоптоза в стволовых клетках меланоцитов, проявляются поседением и выпадением волос [38]. Кроме того, меланоциты обладают некоторыми преимуществами, важными для многих экспериментальных исследований, в частности это относительно длинный жизненный цикл стволовой клетки меланоцита по сравнению с другими клетками кожи, например с кератиноцитами.

Опухолевые клетки меланомы

Хорошо известная высокая гетерогенность опухолевых клеток меланомы явилась одной из предпосылок к изучению наличия/функционирования ОСК в этой опухоли. Выявлено, что клетки меланомы, экспрессирующие маркер стволовых клеток ABCB5, белок семейства ABC-транспортёров, резистентны к противоопухолевому препарату доксорубину [39]. *In vivo* клетки меланомы, экспрессирующие другой маркер опухолевых стволовых клеток – CD271, вызывали формирование опухолевого очага в 72% случаев, тогда как CD271-отрицательные клетки только в 7% [40]. Меланомы с высоким уровнем экспрессии маркера стволовых клеток альдегиддегидрогеназы характеризовались худшим клиническим исходом [41]. Таким образом, гетерогенность меланомы подтверждается наличием в пуле опухолевых клеток ОСК.

Ключевым событием в развитии меланомы является переход из радиальной фазы роста в вертикальную и соответственный рост потенциала к метастазированию опухоли. Молекулярные механизмы могут быть представлены двумя путями, каждый из которых имеет существенные различия. В так называемой генетической модели приобретение генетической мутации в прометастазах представляет собой необратимое событие, при котором метастазы будут генетически отличны от клеток первичной опухоли. В альтернативной модели стволовые клетки меланомы рассматриваются в качестве предикторов метастазов: фенотипическая гетерогенность обусловлена специфической программой экспрессии гена, обеспечиваемой клеточным микроокружением [42].

С другой стороны, скорость перехода от инвазивного фенотипа к пролиферативному очень низкая, состояние покоя в клетке может быть длительным. Если опухолевые клетки с высоким инвазивным потенциалом столкнутся с особыми клеточными «нишами», где будут отсутствовать промиграционные и пролиферативные сигналы, они могут остаться в состоянии покоя на долгие годы, представляя собой так называемые спящие клетки. Но все это время они будут сохранять свой потенциал возвращения в пролиферативное состояние. Существуют предположения, что даже если все клетки меланомы будут обладать активирующими мутациями в генах *BRAF* и *NRAS*, опухоль должна получать про-пролиферативные сигналы и наличие данных сигналов выводит клетку из состояния покоя, стимулируя интенсивную пролиферацию в клетке [43, 44]. В поддержку данной теории есть многочисленные свидетельства. Так, в развитии меланобластов проявляется внутренняя миграционная способность, которая включается и выключается от внеклеточных сигналов, что приводит к реализации точной и скоординированной программы пролиферации и миграции клеток от нервного гребня по специфичным путям в эмбриогенез [45]. Кроме того, при меланоме часто клетки теряют способность к экспрессии Е-кадгерина, одновременно с приобретением инвазивных свойств опухоли, а затем вновь приобретают это свойство с появлением метастазов опухоли [46]. Клетки микроокружения

опухоли, секретирующие компоненты внеклеточного матрикса, могут модифицировать и перепрограммировать нормальные меланоциты в сторону инвазивного фенотипа [47], что играет существенную роль в прогрессии меланомы.

Фактор роста стволовых клеток и с-KIT

Фактор роста стволовых клеток (stem cell factor, SCF) продуцируется фибробластами и эндотелиоцитами и является важным цитокином, регулирующим гемопоэз, сперматогенез и продукцию меланина. Он обладает регуляторным действием на меланоциты посредством паракринных стимулов, отвечает за адекватную финальную миграцию меланоцитов в эпидермис [48]. Рецептором SCF является с-KIT. Связывание последнего с SCF вызывает гомодимеризацию с-KIT, последующую активацию внутриклеточных киназ и аутофосфорилирование остатков тирозина. с-KIT имеет несколько потенциальных участков для фосфорилирования, которые взаимодействуют с расположенными в клетке сигнальными каскадами, включающими фосфатидилинозитол-3-киназный путь, каскад митогенактивируемых протеинкиназ, киназный путь Src [49]. Роль мутаций гена *c-KIT* в патогенезе отдельных разновидностей меланомы считается общепризнанной [50]. Недавние полногеномные исследования выявили, что наличие мутаций в гене *c-KIT* характерно для акрально-лентигинозной меланомы, меланомы слизистых оболочек, а также меланомы кожи, локализованной на участках тела, подверженных хроническому воздействию ультрафиолетового облучения [51]. Большинство мутаций в гене *c-KIT* обнаруживают в юкстамембранном домене рецептора [52]. Мутации приводят к активации как с-KIT, так и внутриклеточных механизмов передачи сигнала. Терапия с-KIT-позитивных опухолей с применением ингибитора тирозинкиназ иматиниба рассматривается как один из персонализированных подходов в онкологии [53]. Недавние исследования выявили, что, помимо генетических aberrаций, ген *c-KIT*, в частности его промоторная область, являются часто подверженными эпигенетическим изменениям – гиперметилированию [54].

Таким образом, ОСК не только влияют на гетерогенность и пластичность меланомы, но и могут быть связаны с нарушением функционирования компонентов клетки, что является важным в развитии и прогрессии меланомы.

Стволовые клетки открывают возможности для научных достижений, которые далеко выходят за рамки регенерационной медицины. Исследования функциональных аспектов стволовых клеток способствуют пониманию ряда вопросов при изучении механизмов старения и канцерогенеза. Кроме того, ОСК должны являться одним из компонентов изучения противоопухолевой эффективности лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ramsden C.M., Powner M.B., Carr A.J.F., Smart M.J.K., Cruz L., Coffey P.J. Stem cells in retinal regeneration: past, present and future.

- Development*. 2013; 140(12): 2576–85. doi: 10.1242/dev.092270.
2. Friedmann-Morvinski D., Verma I.M. Dedifferentiation and reprogramming: origins of cancer stem cells. *EMBO Rep*. 2014; 15(3): 244–53. doi: 10.1002/embr.201338254
 3. Baccelli I., Trumpp A. The evolving concept of cancer and metastasis stem cells. *J. Cell Biol.* 2012; 198(3): 281–93. doi: 10.1083/jcb.201202014.
 4. Pierce G.B., Speers S. Tumors as caricatures of the process of tissue renewal: prospects for therapy by directing differentiation. *Cancer Res*. 1988; 48: 1996–2004.
 5. Bonnet D., Dick J.E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med*. 1997; 3(7): 730–7.
 6. Kobayashi N.C., Noronha S.M. Cancer stem cells: a new approach to tumor development. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2015; 61(1): 86–93. doi: 10.1590/1806-9282.61.01.086.
 7. Mimeault M., Batra S.K. Molecular biomarkers of cancer stem/progenitor cells associated with progression, metastases, and treatment resistance of aggressive cancers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2014; 23(2): 234–54. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0785
 8. Shetzer Y., Solomon H., Koifman G., Molchadsky A., Horesh S., Rotter V. The paradigm of mutant p53-expressing cancer stem cells and drug resistance. *Carcinogenesis*. 2014; 35(6): 1196–208. doi: 10.1093/carcin/bgu073.
 9. Umezawa A., Gorham J.D. Dueling models in head and neck tumor formation. *Lab. Invest.* 2010; 90(11): 1546–8. doi: 10.1038/labinvest.2010.165.
 10. Mani S.A., Guo W., Liao M.J., Eaton E.N., Ayyanan A., Zhou A.Y., et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*. 2008; 133(4): 704–15. doi: 10.1016/j.cell.2008.03.027.
 11. Quintana E., Shackleton M., Foster H.R., Fullen D.R., Sabel M.S., Johnson T.M., et al. Phenotypic heterogeneity among tumorigenic melanoma cells from patients that is reversible and not hierarchically organized. *Cancer Cell*. 2010; 18(5): 510–23.
 12. Liu S., Cong Y., Wang D., Sun Y., Deng L., Liu Y., et al. Breast cancer stem cells transition between epithelial and mesenchymal states reflective of their normal counterparts. *Stem. Cell Reports*. 2013; 2(1): 78–91. doi: 10.1016/j.stemcr.2013.11.009.
 13. Facchini S., Abdouh M., Bernier G. Brain cancer stem cells: current status on glioblastoma multiforme. *Cancers (Basel)*. 2011; 3(2): 1777–97. doi: 10.3390/cancers3021777.
 14. Schlaak M., Schmidt P., Bangard C., Kurschat P., Mauch C., Abken H. Regression of metastatic melanoma in a patient by antibody targeting of cancer stem cells. *Oncotarget*. 2012; 3(1): 22–30.
 15. Fang D., Nguyen T.K., Leishear K., Finko R., Kulp A.N., Hotz S., et al. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res*. 2005; 65(20): 9328–37.
 16. Scatena R., Mordente A., Giordina B., eds. Advances in cancer stem cell biology. Springer. 2012.
 17. Wu Y., Wu P.Y. CD133 as a marker for cancer stem cells: progresses and concerns. *Stem. Cells Dev.* 2009; 18(8): 1127–34. doi: 10.1089/scd.2008.0338.
 18. Lai C.Y., Schwartz B.E., Hsu M.Y. CD133⁺ melanoma subpopulations contribute to perivascular niche morphogenesis and tumorigenicity through vasculogenic mimicry. *Cancer Res*. 2012; 72(19): 5111–8.
 19. Skirecki T., Hoser G., Kawiak J., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Flow cytometric analysis of CD133- and EpCAM-positive cells in the peripheral blood of patients with lung cancer. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 2014; 62(1): 67–75.
 20. Blancas-Mosqueda M., Zapata-Benavides P., Zamora-Ávila D., Saavedra-Alonso S., Manilla-Muñoz E., Franco-Molina M., et al. CD133 antisense suppresses cancer cell growth and increases sensitivity to cisplatin in vitro. *Exp. Ther. Med*. 2012; 4(5): 901–5.
 21. Lang D., Mascarenhas J.B., Shea C.R. Melanocytes, melanocyte stem cells, and melanoma stem cells. *Clin. Dermatol.* 2013; 31(2): 166–78. doi: 10.1016/j.clindermatol.2012.08.014.
 22. Wu C.P., Sim H.M., Huang Y.H., Liu Y.C., Hsiao S.H., Cheng H.W., et al. Overexpression of ATP-binding cassette transporter ABCG2 as a potential mechanism of acquired resistance to vemurafenib in BRAF(V600E) mutant cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 2013; 85(3): 325–34.
 23. Civenni G., Walter A., Robert N., Mihic-Probst D., Zipser M., Belloni B., et al. Human CD271-positive melanoma stem cells associated with metastasis establish tumor heterogeneity and long-term growth. *Cancer Res*. 2011; 71(8): 3098–109. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3997.
 24. Choi A.R., Park J.R., Kim R.J., Kim S.R., Cho S.D., Jung J.Y., et al. Inhibition of Wnt1 expression reduces the enrichment of cancer stem cells in a mouse model of breast cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 425(2): 436–42. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.07.120.
 25. Alipio Z., Liao W., Roemer E., Waner M., Fink L., Ward D., et al. Reversal of hyperglycemia in diabetic mouse models using induced-pluripotent stem (iPS)-derived pancreatic beta-like cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107(30): 13426–31. doi: 10.1073/pnas.1007884107.
 26. Fridman R., Benton G., Aranoutova I., Kleinman H.K., Bonfil R.D. Increased initiation and growth of tumor cell lines, cancer stem cells and biopsy material in mice using basement membrane matrix protein (Cultrex or Matrigel) co-injection. *Nat. Protoc.* 2012; 7(6): 1138–44.
 27. Glover J.C., Boulland J.L., Halasi G., Kasumacic N. Chimeric animal models in human stem cell biology. *ILAR J*. 2009; 51(1): 62–73.
 28. Herlyn M., Fukunaga-Kalabis M. What is a good model of melanoma? *J. Invest. Dermatol.* 2010; 130(4): 911–2. doi: 10.1038/jid.2009.441.
 29. Beaumont K.A., Mohana-Kumaran N., Haass N.K. Modeling melanoma in vitro and in vivo. *Healthcare*. 2014; 2(1): 27–46.
 30. Liu J., Fukunaga-Kalabis M., Li L., Herlyn M. Developmental pathways activated in melanocytes and melanoma. *Arch. Biochem. Biophys.* 2014; 563: 13–21. doi: 10.1016/j.abb.2014.07.023.
 31. Hearing V.J. Determination of melanin synthetic pathway. *J. Invest. Dermatol* 2011; 131(E1): E8–11. doi: 10.1038/skinbio.2011.4.
 32. Ernfort P. Cellular origin and developmental mechanisms during the formation of skin melanocytes. *Exp. Cell Res*. 2010; 316(8): 1397–407. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.02.042.
 33. Hoerter J.D., Bradley P., Casillas A., Chambers D., Weiswasser B., Clements L., et al. Does melanoma begin in a melanocyte stem cell? *J. Skin Cancer*. 2012; 2012: 571087. doi: 10.1155/2012/571087.
 34. Bell R.E., Levy C. The three M's: melanoma, microphthalmia-associated transcription factor and microRNA. *Pigment. Cell Melanoma Res.* 2011; 24(6): 1088–106. doi: 10.1111/j.1755-148X.2011.00931.x.
 35. Li A. The biology of melanocyte and melanocyte stem cell. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. 2014; 46: 255–60. doi: 10.1093/abbs/gmt145.
 36. Nishikawa-Torikai S., Nishikawa S. Stem cell niche: from concept to reality. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2012; 25(2): 122–3. doi: 10.1111/j.1755-148X.2011.00967.
 37. Nishimura E.K. Melanocyte stem cells: a melanocyte reservoir in hair follicles for hair and skin pigmentation. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011; 24(3): 401–10. doi: 10.1111/j.1755-148X.2011.00855.
 38. Ohta S., Imaizumi Y., Akamatsu W., Okano H., Kawakami Y. Generation of human melanocytes from induced pluripotent stem cells. *Methods Mol. Biol.* 2013; 989: 193–215. doi: 10.1007/978-1-62703-330-5_16.
 39. Frank N.Y., Margaryan A., Huang Y., Waaga-Gasser A.M., Gasser M., Sayegh M.H., et al. ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res*. 2005; 65(10): 4320–33.
 40. Boiko A.D., Razorenova O.V., Rijn M., Swetter S.M., Johnson D.L., Ly D.P., et al. Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271. *Nature*. 2010; 466(7302): 133–7.
 41. Boonyaratankornkit J.B., Yue L., Strachan L.R., Scalapino K.J., Le Boit P.E., Lu Y., et al. Selection of tumorigenic melanoma cells using ALDH. *J. Invest. Dermatol.* 2010; 130(12): 2799–808. doi: 10.1038/jid.2010.237.
 42. Rajasekhar V.K., ed. *Cancer stem cells*. New Jersey: John Wiley Sons; 2014.
 43. Tsao H., Chin L., Garraway L.A., Fisher D.E. Melanoma: from mutations to medicine. *Genes Dev*. 2012; 26(11): 1131–55. doi: 10.1101/gad.191999.112.
 44. Bello D.M., Ariyan C.E., Carvajal R.D. Melanoma mutagenesis and aberrant. *Cell Signaling*. 2013; 20(4): 261–81.
 45. Dumaz N. Mechanism of RAF isoform switching induced by oncogenic RAS in melanoma. *Small GTPases*. 2011; 2(5): 289–92.
 46. Turley R.S., Tokuhisa Y., Toshimitsu H., Lidsky M.E., Padussis J.C., Fontanella A., et al. Targeting N-cadherin increases vascular permeability and differentially activates AKT in melanoma. *Ann. Surg.* 2015; 261(2): 368–77. doi: 10.1097/SLA.0000000000000635.
 47. Lobos-González L., Aguilar L., Diaz J., Diaz N., Urra H., Torres V., et al. E-cadherin determines Caveolin-1 tumor suppression or metastasis enhancing function in melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2013; 26(4): 555–70. doi: 10.1111/pcmr.12085.
 48. Tabone-Eglinger S., Wehrle-Haller M., Aebischer N., Jacquier M.C., Wehrle-Haller B. Membrane-bound Kit ligand regulates melanocyte adhesion and survival, providing physical interaction with an intraepithelial niche. *FASEB J*. 2012; 26(9): 3738–53.
 49. Lennartsson J., Rönnstrand L. Stem cell factor receptor/c-Kit: from basic science to clinical implications. *Physiol. Rev.* 2012; 92(4): 1619–49. doi: 10.1152/physrev.00046.2011.
 50. Mehnert J.M., Kluger H.M. Driver mutations in melanoma: lessons learned from bench-to-bedside studies. *Curr. Oncol. Rep.* 2012; 14(5): 449–57. doi: 10.1007/s11912-012-0249-5.
 51. Lu C., Lu Z.J.C., Zhang J., Nagahawatte P., Easton J., Lee S., et al. The genomic landscape of childhood and adolescent melanoma. *J. Invest. Dermatol.* 2015; 135(3): 816–23. doi: 10.1038/jid.2014.425.
 52. Chen L., Faire M., Kissner M.D., Laird D.J. Primordial germ cells and gastrointestinal stromal tumors respond distinctly to a c-Kit overactivating allele. *Hum. Mol. Genet.* 2013; 22(2): 313–27. doi: 10.1093/hmg/dd3430.
 53. Lacy K.E., Karagiannis S.N., Nestle F.O. Advances in the treatment of melanoma. *Clin. Med.* 2012; 12(2): 168–71.
 54. Dahl C., Abildgaard C., Riber-Hansen R., Steiniche T., Lade-Keller J., Guldberg P., et al. KIT is a frequent target for epigenetic silencing in cutaneous melanoma. *J. Invest. Dermatol.* 2015; 135(2): 516–24. doi: 10.1038/jid.2014.372.

Поступила 06.05.15

Received 06.05.15