

Клиническое значение стволовых клеток рака молочной железы (обзор литературы)

И.Б. Щепотин¹, А.С. Зотов¹, Р.В. Любота¹, Н.Ф. Аникуско², И.И. Любота²

¹Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев, Украина;

²Киевский городской клинический онкологический центр, Украина

Контакты: Роман Викторович Любота lyubota@ukr.net

Длительное время в онкологии доминировала стохастическая теория возникновения и прогрессирования опухолей, которая постулировала, что любая клетка злокачественной опухоли обладает клоногенными свойствами. Тем не менее в настоящее время появляется все больше данных, указывающих, что злокачественные опухоли, подобно нормальным тканям, состоят из нескольких субпопуляций клеток различной степени дифференциации, включая стволовые. Таким образом, альтернативой стохастической теории стала иерархическая теория канцерогенеза. Подобно нормальным стволовым клеткам, стволовые клетки рака имеют природную устойчивость к лучевой и системной лекарственной терапии и могут стать причиной возникновения рецидивов и метастазов опухоли. В настоящем обзоре литературы проанализированы данные, касающиеся клинического значения стволовых клеток рака молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, стволовые клетки рака, клиническое значение

The clinical significance of breast cancer stem cells (review of literature)

I.B. Schepotin¹, A.S. Zotov¹, R.V. Lyubota¹, N.F. Anikusko², I.I. Lyubota²

¹A.A. Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine;

²Kiev Municipal Clinical Oncological Centre, Ukraine

For a long time, in oncology dominated the stochastic theory of onset and progression of tumors, which postulated that any cell malignant tumor has tumorigenesis properties. However, currently there are more data indicating that the malignant tumors like normal tissues consist of several subpopulations of cells of various degree of differentiation, including stem. Thus, the alternative stochastic theory became a hierarchical theory of carcinogenesis. Like normal stem cells, cancer stem cells have natural resistance to radiation and systemic drug therapy, and may become the reason of occurrence of relapses and metastases. In this review analysed data regarding the clinical significance of breast cancer stem cells.

Key words: breast cancer, stem cells and cancer, clinical value

Введение

Популяция клеток злокачественных опухолей, которые обладают сходными свойствами с естественными стволовыми клетками, такими как самоподдержание, самообновление и образование колоний, называются стволовыми клетками рака (СКР). Согласно концепции СКР, которая предложена J. Dick et al. (1997), инициация, рост и прогрессирование злокачественных опухолей осуществляются благодаря делению и дифференциации субпопуляции низкокодифференцированных полипотентных опухолевых клеток, которые обнаружены при многих гемобластозах и солидных неоплазиях и занимают наивысшую позицию в клеточной иерархии опухолей аналогично стволовой кровяной клетке. В многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях выявлено, что генетически различные СКР являются предшественниками различных субклонов, которые конкурентно формируют опухолевую массу, это обуславливает гетерогенность опухоли, и как следствие, в ряде случаев определяет неэффективность системной терапии. Неэффективность проводи-

мой терапии можно объяснить естественной и/или приобретенной резистентностью СКР к ионизирующему излучению (ИИ) и цитостатикам [1, 2]. Классическая концепция СКР схематически представлена на рис. 1. На данный момент концепция СКР наиболее полно отображает комплекс динамических процессов, которые лежат в основе возникновения опухоли, ее рецидивирования и метастазирования, а также механизмы резистентности опухолей к проводимой терапии.

Учитывая большое количество публикаций и прикладное значение концепции СКР, целью данной работы является систематизация существующих результатов экспериментальных и клинических исследований, что позволит применять знания о СКР в повседневной клинической практике для улучшения отдаленных результатов лечения больных со злокачественными новообразованиями.

Происхождение и функции стволовых клеток рака

Существует несколько гипотез, которые объясняют происхождение СКР. Согласно первой гипотезе,

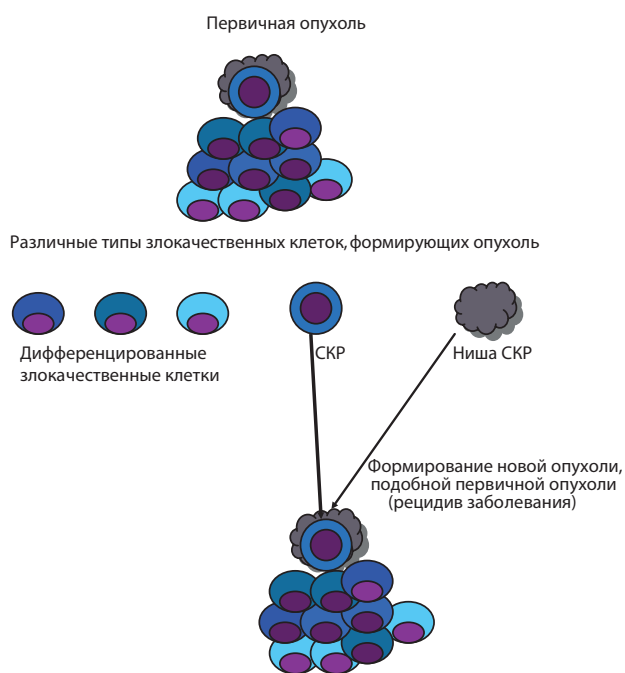


Рис. 1. Концепция СКР

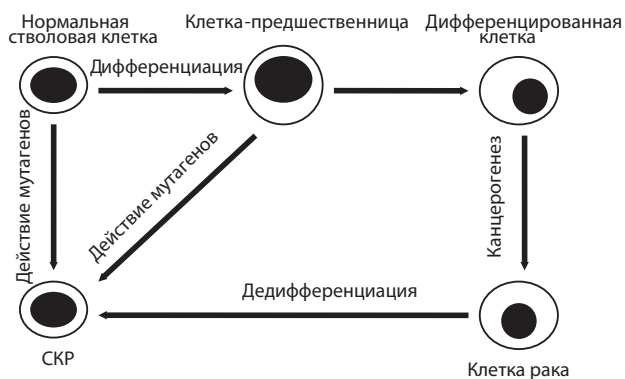


Рис. 2. Теории происхождения СКР

СКР происходят из стволовых клеток данной ткани вследствие мутаций последних. При этом СКР остаются плюрипотентными и сохраняют способность к самоподдержанию и самообновлению [3, 4]. Сторонники второй гипотезы считают, что СКР образуются из клеток-предшественников в процессе дифференциации естественной стволовой клетки. В этом случае СКР унипотентны, с частичной способностью к самообновлению [5, 6]. Приверженцы третьей гипотезы считают, что СКР возникают из зрелых опухолевых клеток, которые в результате дедифференциации приобретают фенотип стволовых клеток (рис. 2).

Согласно классической концепции СКР, большинство злокачественных опухолей имеют иерархическую клеточную организацию, аналогичную нормальным тканям с большим регенеративным потенциалом (кожа, слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта, кроветворная ткань и т. д.), т. е.

в верхней части клеточной организации нормальные стволовые клетки, благодаря которым поддерживается тканевой гомеостаз и способность к регенерации [7–12]. Иерархическая клеточная организация обнаружена во многих опухолях человека, включая лейкемии [13], рак молочной железы (РМЖ) [14, 15], колоректальный рак [16–18], рак поджелудочной железы [19, 20], меланому [21, 22] и некоторые другие.

Важную роль в функционировании как нормальных, так и опухолевых стволовых клеток, включая пролиферацию и дифференцировку, играет микросреда (ниша или строма стволовой клетки), в которой находится клетка. Основная роль ниши – поддержание стволовых клеток в состоянии функционального покоя и при необходимости – активация последних посредством регуляторных сигнальных молекул [23]. После активации стволовых клеток происходит асимметричное деление, и одна из дочерних клеток остается в строме, обеспечивая количественное постоянство стволовых клеток (самоподдержание и самообновление), а вторая покидает нишу, делится и дифференцируется в зрелые (частично или терминально дифференцированные) клетки (клонообразование). Частично и терминально дифференцированные клетки, которые занимают низшее иерархическое положение в клеточной организации злокачественных опухолей, составляют основную клеточную массу, но биологическое и клиническое поведение опухоли определяет небольшой по численности, но наивысший в иерархии клон – СКР. При нарушении контролирующей функции микросреды стволовая клетка приобретает способность к бесконтрольной пролиферации и миграции из ниши. Строма стволовой клетки состоит из мезенхимальных и иммунных клеток, сосудистой сети, факторов регуляции стволовых клеток и внеклеточного матрикса. Как и нормальные стволовые клетки, СКР имеют свою нишу, которая выполняет ту же функцию, что и микроокружение нормальной стволовой клетки [24].

В последние годы появились сведения, что частично и терминально дифференцированные клетки опухоли под влиянием различных факторов (в том числе под воздействием средств специального лечения) могут стать источником вторичных СКР, которые значительно отличаются от материнских СКР.

Резистентность стволовых клеток рака к лучевой и лекарственной терапии

Исходя из классической концепции, СКР являются предшественниками всех клеток, образующих опухоль (дифференцированное потомство). Заслуживает внимания тот факт, что СКР, как и нормальные стволовые клетки, большую часть своего существования находятся в состоянии физиологического покоя, что обуславливает природную резистентность к действию ИИ

и цитостатиков. Так как цитостатики и ИИ в большинстве случаев действуют на пролиферирующие клетки, то вполне закономерно, что физиологически неактивные СКР устойчивы к этим видам лечения. Оставшиеся после консервативной терапии СКР могут послужить причиной возникновения рецидивов и метастазов, снижая, тем самым, основные показатели эффективности лечения онкологических заболеваний — общую и безрецидивную выживаемость больных. Молекулярно-генетические основы лекарственной резистентности СКР малоизучены и являются предметом экспериментальных исследований.

В исследовании X. Li et al. (2008) у больных местно-распространенным РМЖ выявлено увеличение количества СКР (с 4,7 до 5,9 %) после неoadъювантной химиотерапии [25]. Аналогичные результаты получены у больных с хроническим миелоидным лейкозом, у которых часть опухолевых клеток проявляли резистентность к ингибиторам тирозинкиназы (иматиниб) даже при достижении полного молекулярного ответа на лечение. После прекращения лечения иматинибом рецидив опухоли наблюдался у большинства пациенток. Скорее всего, причиной возникновения рецидива опухоли стала пролиферация и дифференциация резистентных к проводимой терапии СКР, так как клетки рецидивной опухоли сохранили чувствительность к ингибиторам тирозинкиназы [26, 27].

На данный момент большое значение в развитии лекарственной резистентности отводят цитозольному ферменту альдегиддегидрогеназе 1 (ALDH1), который катализирует окисление альдегидов. Повышенная активность ALDH1 выявлена в клетках РМЖ, резистентных к циклофосфамиду, по сравнению с клетками, чувствительными к этому цитостатику [14]. Роль этого фермента в возникновении устойчивости к другим цитостатикам изучается в доклинических исследованиях.

Устойчивость СКР к генотоксическому действию ИИ обусловлена следующими закономерностями: под действием ИИ в клетке увеличивается концентрация активных форм кислорода, что приводит к повреждению ДНК и гибели клетки. В СКР выявлены механизмы, которые препятствуют повреждению ДНК клетки активными формами кислорода [28].

В исследованиях *in vitro* доказано, что лекарственная резистентность опухолевой клетки может быть временной, приобретенной и обратимой [29].

Стволовые клетки рака молочной железы

Впервые стволовые клетки РМЖ были выделены в 2003 г. M. Al-Hajj et al. обнаружили в 8 из 9 случаев РМЖ человека популяцию клеток, обладающих большой туморогенностью и способных давать начало новой опухоли *in vivo*. На поверхности этих клеток выявлена высокая экспрессия эпителиального специфического

человеческого антигена (ESA⁺), маркера CD44 (CD44⁺) и отсутствие или низкая экспрессия CD24 (CD24^{-/low}). Так, опухоль развивалась у мышей после введения одноклеточной суспензии, которая содержала 200 ESA⁺/CD44⁺/CD24^{-/low} или 1000 CD44⁺/CD24^{-/low} опухолевых клеток, а при введении суспензии без предварительного фракционирования при наличии 10000 клеток РМЖ развился только у 3 (25 %) из 12 мышей. Клетки опухолей, развившихся у мышей в данном эксперименте, сохранили фенотипическую гетерогенность, которая проявлялась различной экспрессией маркеров ESA, CD44 и CD24 на поверхности сгенерированных опухолей, так как в дочерних опухолях наряду с туморогенными (материнскими) клетками ESA⁺/CD44⁺/CD24^{-/low} и/или CD44⁺/CD24^{-/low} были обнаружены нетуморогенные (дочерние) клетки ESA⁻ и/или CD44⁻ и/или CD24⁺. После определения субпопуляционного состава клеточных суспензий первичной опухоли и ксенотрансплантата (после прививания животным только ESA⁺/CD44⁺/CD24^{-/low}) методом проточной цитометрии было выявлено, что последний имеет схожий с материнской опухолью субпопуляционный состав, т.е. большая часть ксенотрансплантата представлена нетуморогенными клетками [15]. Таким образом, в данном исследовании было доказано, что ESA⁺/CD44⁺/CD24^{-/low} и CD44⁺/CD24^{-/low} популяции клеток человеческого РМЖ способны к самообновлению, самоподдержанию и образованию колоний, что, согласно концепции СКР, позволило отнести их к стволовым клеткам РМЖ. Дальнейшие клинические исследования показывают, что большое количество стволовых клеток РМЖ (CD44⁺/CD24^{-/low}) в первичной опухоли значительно уменьшает общую и безрецидивную выживаемость больных РМЖ [30].

На данный момент неоспоримым является прогностическое значение молекулярных подтипов РМЖ. Так, опухоли с люминальным фенотипом имеют более благоприятный прогноз течения по сравнению с HER-2⁺ и трижды негативным РМЖ. Изучение количества стволовых клеток в опухолях с различным молекулярным фенотипом как косвенное доказательство влияния их количества на прогноз течения стало целью работы G. Yang et al. (2012). В данной работе исследовали количество СКР в образцах ткани опухоли, полученных от 20 пациенток с различными молекулярными подтипами РМЖ, которые не получали неoadъювантную химио- и/или лучевую терапию. Образцы тканей в зависимости от молекулярного фенотипа опухоли разделили на 5 групп: 1-я группа — люминальный А тип (ER⁺ и/или PR⁺, HER-2/neu⁻), 2-я группа — люминальный В тип (ER⁺ и/или PR⁺, HER-2/neu⁺), 3-я группа — HER-2⁺ тип (ER⁻, PR⁻, HER-2/neu⁺), 4-я группа — basal-like тип (ER⁻, PR⁻, HER-2/neu⁻, CK5/CK14⁺), 5-я группа — normal-like

тип (ER–, PR–, HER-2/neu–, CK5/CK14–). Статистически значимых отличий по возрасту на момент постановки диагноза, наличию метастазов в регионарных лимфатических узлах и гистологическим характеристикам опухоли в исследуемых группах выявлено не было. В исследовании выявлено, что число СКР в опухолях с различным молекулярным фенотипом различно и составляет: $1,1 \pm 0,2$ на 1000 клеток в 1-й группе; $1,3 \pm 0,1$ на 1000 клеток во 2-й группе; $8,6 \pm 1,0$ на 1000 клеток в 3-й группе; $22,4 \pm 1,2$ на 1000 клеток в 4-й группе; $17,7 \pm 2,0$ на 1000 клеток в 5-й группе. Как видно из результатов исследования, самое высокое количество стволовых клеток РМЖ в опухолях с наиболее прогностически неблагоприятным трижды негативным молекулярным подтипом (basal-like и normal-like), что позволяет рассматривать этот показатель не только для определения прогноза течения, но и для выбора тактики лечения больных РМЖ [31].

Маркеры стволовых клеток рака молочной железы

В 2008 г. В. Morrison et al. опубликовали перечень маркеров, наличие которых на мембранах клеток РМЖ позволяет отнести их к стволовым клеткам РМЖ (таблица).

Маркеры стволовых клеток РМЖ

Маркер	Характеристика
Аденозинтрифосфат-связывающий кассетный транспортер G2 (ABC G2)	Мембраноассоциированный белок, физиологической функцией которого является препятствование проникновению ксенобиотиков в клетку. Наличие ABC G2 в клетках РМЖ обуславливает их множественную резистентность к цитостатикам, таким как митоксантрон, производные камптотецина и антрациклиновые антибиотики
CD44	Мембранный гликопротеид (рецептор гиалуроновой кислоты), участвующий в межклеточном взаимодействии, клеточной миграции и адгезии. В клетках РМЖ CD44 участвует в пролиферации, дифференцировке и миграции клеток, ангиогенезе, а также обеспечивает взаимодействие цитокинов, хемокинов и факторов роста с соответствующими рецепторами
Неприлизин (CD10, CALLA – общий антиген острого лимфобластного лейкоза)	Экспрессируется на мембранах клеток острого лимфобластного лейкоза, В-клеточных лимфом, меланомы, рака легкого и РМЖ. Функции данного маркера достоверно не установлены
Молекулы адгезии эпителиальных клеток (EpcAM, ESA, CD326)	Трансмембранный гликопротеид, который обеспечивает гомотипическую адгезию эпителиальных клеток, а также принимает участие в пролиферации, дифференциации и миграции эпителиоцитов. EpcAM оказывает негативное влияние на кадгерин-опосредованную адгезию путем уменьшения ассоциации комплекса кадгерин/катенин в цитоскелете. EpcAM экспрессируется в нормальных эпителиальных клетках в значительно меньшем количестве, чем в клетках рака
CD29 (β 1-integrin)	Мембранный рецептор, принимающий участие в клеточной адгезии и метастатическом распространении опухоли
CD133 (prominin-1)	Трансмембранный гликопротеин, который обнаружен в большинстве СКР, но функция его пока неизвестна
ALDH1	Цитозольный фермент, высокая концентрация которого в стволовых клетках РМЖ ассоциируется с резистентностью последних к цитостатикам и неблагоприятным прогнозом течения РМЖ
Рецептор 4-го типа семейства хемокинов CXС (CXCR4, фузин, CD184)	Специфический рецептор для SDF-1 (CXCL12), который принимает участие в гемопоэзе. Гиперэкспрессия CD184 обнаружена во многих злокачественных опухолях, в том числе и РМЖ, и связана с метастатическим поражением органов и тканей с высокой концентрацией CXCL12 (легкие, печень, костный мозг)

Несмотря на то что в своей работе В. Morrison et al. значительно увеличили предложенный М. Al-Hajj et al. (2003) перечень маркеров стволовых клеток РМЖ, многие исследователи для их идентификации считают достаточным наличие высокой экспрессии CD44 при одновременном низком уровне или отсутствии CD24.

Клиническое значение стволовых клеток рака молочной железы

Согласно концепции СКР, инициировать и поддерживать рост опухоли способны только СКР, поэтому сложно переоценить их клиническое значение при РМЖ. Роль стволовых клеток РМЖ в клиническом течении и исходах заболевания проанализирована в многочисленных исследованиях. Так, после проведения иммуногистохимического анализа наличия маркеров CD44 и CD24 в образцах опухоли, взятых у больных РМЖ, выявлена корреляционная связь между высоким содержанием в первичной опухоли субпопуляции клеток CD44⁺/CD24^{-/low} и наличием отдаленных метастазов РМЖ, особенно в костях [32]. В исследовании F. Yu et al. выявлено, что метастазы в плевру у больных, ранее получавших химиотерапию, содержат большое количество CD44⁺/CD24^{-/low} кле-

ток, что, скорее всего, обусловлено резистентностью стволовых клеток РМЖ к цитостатикам, которые и стали причиной метастатического поражения плевры у этих пациенток [33]. В исследовании P. Marcato et al. определено прогностическое значение концентрации фермента ALDH1 в клетках РМЖ. Высокое содержание изоформы А3 этого фермента ассоциируется с низкими показателями общей и безрецидивной выживаемости больных РМЖ [34].

Несмотря на то что наличие стволовых клеток РМЖ коррелирует с неблагоприятным прогнозом течения заболевания, не стоит недооценивать роль других (не относящихся к СКР) субпопуляций клеток опухоли, метастатический потенциал которых выявлен в экспериментальных и естественных условиях. Кроме того, механизмы, которые лежат в основе терапевтической резистентности стволовых клеток РМЖ и инициации ими опухолевой прогрессии, полностью не определены, а свойства СКР во многом зависят от окружающей микросреды, и результаты, полученные на экспериментальных моделях, могут значительно отличаться от клинических.

Приведенные выше данные свидетельствуют о наличии корреляционной связи между количеством стволовых клеток РМЖ в первичной опухоли и прогнозом течения заболевания. Эта закономерность позволяет предположить, что стволовые клетки РМЖ играют ключевую роль в биологии данного заболевания, и требует разработки новых методов лечения,

направленных на девитализацию стволовых клеток РМЖ путем воздействия на мембранные маркеры и сигнальные молекулы, прерывания внутриклеточных сигнальных путей и изменения состава и функций микросреды.

Несмотря на некоторые успехи в изучении целевой терапии стволовых клеток РМЖ, достигнутые в доклинических исследованиях на животных, эффективность и безопасность этих лекарственных средств для человека требуют дальнейшего изучения. Например, противомикробный препарат салиномицин обладает цитостатическим действием на привитые грызунам стволовые клетки РМЖ человека, но его применение у других животных приводит к неблагоприятным последствиям [35]. В исследовании H. Hirsch et al. (2009) установлено, что метформин избирательно уменьшает количество CD44⁺/CD24^{-/low} клеток в мышинных ксенотрансплантатах РМЖ, а в комбинации с антрациклинами приводит к более значительной потере массы опухоли по сравнению с применением каждого из препаратов в режиме монотерапии и предотвращает развитие рецидивов [36]. Антибластомный эффект метформина обоснован возможностью препарата активировать аденозинмонофосфат-активируемую протеинкиназу. Способностью блокировать генерированные микросредой сигналы и вызывать апоптоз стволовых клеток РМЖ в мышинных ксенотрансплантатах обладает противовоспалительное лекарственное средство антагонист рецепторов IL-8, CXCR1 – репертаксин [37].

ЛИТЕРАТУРА

1. Takahashi R.U., Takeshita F., Fujiwara T. et al. Cancer stem cells in breast cancer. *Cancers (Basel)* 2011;3(1):1311–28.
2. Battula V.K., Shi Y., Evans K.W. et al. Ganglioside GD2 identifies breast cancer stem cells and promotes tumorigenesis. *J Clin Invest* 2012;122(6):2066–78.
3. Croker A.K., Allan A.L. Cancer stem cells: implications for the progression and treatment of metastatic disease. *J Cell Mol Med* 2008;12(2):374–90.
4. Allan A.L., Vantighem S.A., Tuck A.B., Chambers A.F. Tumor dormancy and cancer stem cells: implications for the biology and treatment of breast cancer metastasis. *Breast Dis* 2007;26:87–98.
5. Li F., Tiede B., Massague J., Kang Y. Beyond tumorigenesis: cancer stem cells in metastasis. *Cell Res* 2007;17(1):3–14.
6. Kucia M., Ratajczak M.Z. Stem cells as a two-edged sword – from regeneration to tumor formation. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57 Suppl 7:5–16.
7. Seita J., Weissman I.L. Hematopoietic stem cell: self-renewal versus differentiation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2010;2(6):640–53.
8. van der Flier L.G., Clevers H. Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annu Rev Physiol* 2009;71:241–60.
9. Fuchs E., Nowak J.A. Building epithelial tissues from skin stem cells. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2008;73:333–50.
10. Clevers H. The cancer stem cell: premises, promises and challenges. *Nat Med* 2011;17(3):313–9.
11. Nguyen L.V., Vanner R., Dirks P., Eaves C.J. Cancer stem cells: an evolving concept. *Nat Rev Cancer* 2012;12(2):133–43.
12. Dick J.E. Stem cell concepts renew cancer research. *Blood* 2008;112(13):4793–807.
13. 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.
14. Ginestier C., Hur M.H., Charafe-Jauffret E. et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007;1(5):555–67.
15. Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(7):3983–8.
16. Dalerba P., Dylla S.J., Park I.K. et al. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(24):10158–63.
17. O'Brien C.A., Pollett A., Gallinger S., Dick J.E. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007;445(7123):106–10.
18. Huang E.H., Hynes M.J., Zhang T. et al. Aldehyde dehydrogenase1 is a marker for normal and malignant human colonic stem cells (SC) and tracks SC overpopulation during colon tumorigenesis. *Cancer Res* 2009;69(8):3382–9.
19. Hermann P.C., Huber S.L., Herrler T. et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007;1(3):313–23.
20. Li C., Heidt D.G., Dalerba P. et al. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007;67(3):1030–7.
21. Schatton T., Murphy G.F., Frank N.Y. et al. Identification of cells initiating human

- melanomas. *Nature* 2008;451(7176):345–9.
22. Boiko A.D., Razorenova O.V., van de Rijn M. et al. Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271. *Nature* 2010;466(7302):133–7.
23. He X.C., Zhang J., Li L. Cellular and molecular regulation of hematopoietic and intestinal stem cell behavior. *Ann NY Acad Sci* 2005;1049:28–38.
24. Park D., Sykes D.B., Scadden D.T. The hematopoietic stem cell niche. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2012;17:30–9.
25. Li X., Lewis M.T., Huang J. et al. Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2008;100(9):672–9.
26. Goldman J.M. Chronic myeloid leukemia: a historical perspective. *Semin Hematol* 2010;47(4):302–11.
27. Perrotti D., Jamieson C., Goldman J., Skorski T. Chronic myeloid leukemia: mechanisms of blastic transformation. *J Clin Invest* 2010;120(7):2254–64.
28. Diehn M., Cho R.W., Lobo N.A. et al. Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells. *Nature* 2009;458(7239):780–3.
29. Sharma S.V., Lee D.Y., Li B. et al. A chromatin-mediated reversible drug-tolerant state in cancer cell subpopulations. *Cell* 2010;141(1):69–80.
30. Battula V.K., Shi Y., Evans K.W. et al. Ganglioside GD2 identifies breast cancer stem cells and promotes tumorigenesis. *J Clin Invest* 2012;122(6):2066–78.
31. Yang G., Xue F., Chen X. Prognostic value of different amounts of cancer stem cells in different molecular subtypes of breast cancer. *Gland Surg* 2012;1(1):20–4.
32. Abraham B.K., Fritz P., McClellan M. et al. Prevalence of CD44+/CD24-/low cells in breast cancer may not be associated with clinical outcome but may favor distant metastasis. *Clin Cancer Res* 2005;11(3):1154–9.
33. Yu F., Yao H., Zhu P. et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell* 2007;131(6):1109–23.
34. Marcatto P., Dean C.A., Pan D. et al. Aldehyde dehydrogenase activity of breast cancer stem cells is primarily due to isoform ALDH1A3 and its expression is predictive of metastasis. *Stem Cells* 2011;29(1):32–45.
35. Gupta P.B., Onder T.T., Jiang G. et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. *Cell* 2009;138(4):645–59.
36. Hirsch H.A., Iliopoulos D., Tschlis P.N., Struhl K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res* 2009;69(19):7507–11.
37. Ginestier C., Liu S., Diebel M.E. et al. CXCR1 blockade selectively targets human breast cancer stem cells in vitro and in xenografts. *J Clin Invest* 2010;120(2):485–97.