



<https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-3-216-222>

Опухолевые стволовые клетки мультиформной глиобластомы как потенциальные терапевтические мишени

Бейлерли Озал Арзуман оглы —
аспирант кафедры урологии
с курсом ИДПО,
e-mail: obeylerli@mail.ru,
тел.: +79875980003,
orcid.org/0000-0002-6149-5460

Гареев Ильгиз Фанилевич —
аспирант кафедры
нейрохирургии и
медицинской реабилитации
с курсом ИДПО,
e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru,
orcid.org/0000-0002-4965-0835

Shiguang Zhao —
профессор, зав. кафедрой
нейрохирургии,
e-mail: guangsz@hotmail.com

Xin Chen —
ассистент кафедры
нейрохирургии, врач-
фармаколог,
e-mail: chenxin_tracy@yeah.net

О.А. Бейлерли¹, И.Ф. Гареев¹, Shiguang Zhao², Xin Chen²

¹ Башкирский государственный медицинский университет, Россия, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

² Харбинский медицинский университет, Китай, 150081, Хэйлунцзян, Харбин, Наньган, Баоцзянь-роуд, 157

Контакты: Бейлерли Озал Арзуман оглы, e-mail: obeylerli@mail.ru, тел.: +7(987)5980003

Резюме

Спустя десять лет после первого описания опухолевых стволовых клеток (ОСК) у глиобластомы (GBM) первоначальная концепция ОСК была подвергнута сомнению, и наше понимание клеточной гетерогенности в злокачественных опухолях головного мозга стало более сложным. Увеличение знаний об опухолевых стволовых клетках также влияет на доклинические исследования и клиническую практику. Одним из основных препятствий в лечении рака является химиорезистентность, ведущая к рецидиву опухоли и метастазированию. Рецидив GBM почти универсален, и ее прогноз остается сомнительным, несмотря на значительные успехи в лечении за последнее десятилетие. Опухолевые стволовые клетки, в частности стволовые клетки глиобластомы (СКГ), обладают высокой устойчивостью к химиотерапии и лучевой терапии, а также к иммунному распознаванию. GBM показывает значительную внутриопухолевую фенотипическую и молекулярную гетерогенность и содержит популяцию опухолевых стволовых клеток, которая способствует делению опухолевых клеток, поддержанию и устойчивости к лечению. ОСК функционально определяются их способностью к самообновлению и дифференцировке, и они имеют разнообразную иерархию клеток, составляющих опухоль. Учитывая критическую роль ОСК в патогенезе глиобластомы, исследование их молекулярных и фенотипических характеристик является терапевтическим приоритетом.

Ключевые слова: глиобластома, центральная нервная система, стволовые клетки, опухолевые стволовые клетки, стволовые клетки глиобластомы, терапевтические мишени, биомаркеры новообразований, сигнальный путь, анкилирующие противоопухолевые средства

Для цитирования: Бейлерли О.А., Гареев И.Ф., Shiguang Zhao, Xin Chen. Опухолевые стволовые клетки мультиформной глиобластомы как потенциальные терапевтические мишени. Креативная хирургия и онкология. 2019;9(3):216–222. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-3-216-222>

Glioblastoma Multiforme Tumour Stem Cells as Potential Therapeutic Targets

Ozal A. Beylerli¹, Ilgiz F. Gareev¹, Shiguang Zhao², Xin Chen²

¹ Bashkir State Medical University, 3 Lenin str., Ufa, 450008, Russian Federation

² Harbin Medical University, 157 Baojian Rd, Nangang Qu, Haerbin Shi, Heilongjiang Sheng, 150081, China

Contacts: Beylerli Ozal Arzuman, e-mail: obeylerli@mail.ru, tel.: +7(987)5980003

Beylerli Ozal Arzuman —
Post-graduate student of
the Department of Urology
with the Course of Additional
Professional Education, e-mail:
obeylerli@mail.ru,
tel.: +79875980003,
orcid.org/0000-0002-6149-5460

Gareev Ilgiz Fanilevich —
Post-graduate student of the
Department of Neurosurgery
and Medical Rehabilitation
with the Course of Additional
Professional Education,
e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru,
orcid.org/0000-0002-4965-0835

Shiguang Zhao —
Professor, Head of the
Department of Neurosurgery,
e-mail: guangsz@hotmail.com

Xin Chen —
Assistant lecturer of the
Department of Neurosurgery,
Pharmacologist,
e-mail: chenxin_tracy@yeah.net

The original concept of tumour stem cells (TSC) has been questioned ten years after TSCs in glioblastoma (GBM) had been described for the first time. Our understanding of cell heterogeneity in malignant brain tumours has become more complex. The improvements in our knowledge of tumour stem cells also impact on pre-clinical research and clinical practice. Chemoresistance is one of the key obstacles to success in treating malignant tumours; it results in tumour recurrence and metastatic spread. GBM relapse is almost universal, and its prognosis remains uncertain despite significant advances in treatment over the last decade. Tumour stem cells, glioblastoma stem cells (GSC) in particular, are highly resistant to chemotherapy, radiation therapy and immune recognition. GBM shows significant intratumoural phenotypic and molecular heterogeneity containing a population of tumour stem cells that contributes to the division of tumour cells supporting the resistance to treatment. TSCs are defined functionally by their ability for self-renewal and differentiation; they present a most diverse hierarchy of cells making up the tumour. The critical role of TSCs in glioblastoma pathogenesis makes the research into their molecular and phenotypic characteristics a therapeutic priority.

Keywords: glioblastoma, central nervous system, stem cells, tumour stem cells, glioblastoma stem cells, therapeutic targets, tumour biomarkers, signalling pathway, alkylating antineoplastic agents

For citation: Beylerli O.A., Gareev I.F., Shiguang Zhao, Xin Chen. Glioblastoma Multiforme Tumour Stem Cells as Potential Therapeutic Targets. *Creative Surgery and Oncology*. 2019;9(3):216–222. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-3-216-222>

Введение

Глиобластомы (GBM) являются наиболее распространенными первичными опухолями центральной нервной системы у взрослых с плохим прогнозом и средней продолжительностью жизни с момента постановки диагноза менее 18 месяцев. Эта злокачественная опухоль до сих пор неизлечима, и необходимо срочно разработать инновационные направления в исследованиях для определения новых терапевтических стратегий. В последние несколько лет было выяснено, что GBM развиваются из ОСК (СКГ — стволовых клеток глиомы). СКГ соответствуют субпопуляции, обладающей свойствами стволовых клеток (самообновление, дифференцировка) и лекарственной устойчивостью, что сильно влияет на их инициацию, прогрессирование опухоли и систематические рецидивы этой патологии [1–3].

Идентификация ОСК при глиобластомах: СКГ-маркеры

Единственные критерии для определения стволовых клеток рака являются функциональными, такими как самообновление *in vitro* или *in vivo*, мультилинейная дифференциация и способность образовываться *in vivo* в опухолях у мышей с ослабленным иммунитетом. Были приложены большие усилия для выявления маркеров и выделения субпопуляций стволовых клеток из суспензии опухолевых клеток. Ряд мембранных маркеров, факторов транскрипции или белков цитоскелета, таких как *CD133*, *CD15*, *CD44*, *A2B5*, *SOX2*, *NANOG*, *OCT4*, *OLIG2*, *NESTIN*, были идентифицированы в СКГ по аналогии с гемопоэтическими нервными стволовыми клетками [3]. Особенно интересно отметить, что *NANOG* или *OCT4*, два эмбриональных маркера, отсутствующие в нормальных взрослых стволовых клетках, экспрессируются в СКГ, что указывает на степень плюрипотентности. Транскрипционные факторы, такие как *NANOG*, *SOX1/2*, *OCT4*, могут экспрессироваться с большой долей в СКГ одной и той же опухоли [4].

Сосудистые ниши, гипоксические ниши

В нормальных тканях стволовые клетки сохраняют свои свойства посредством сложного взаимодействия с их микроокружением. Как и взрослые стволовые клетки, ОСК формируют свою среду посредством обмена факторами, что влияет на их клеточную судьбу. Концептуально среда для поддержания свойств стволовых клеток называется «нишей». При GBM локализация ниш раковых стволовых клеток остается неопределенной, но, тем не менее, она была описана на модели нейрональных стволовых клеток взрослых сосудистых ниш с зависимостью от СКГ. Например, в субвентрикулярных областях мозга нервные стволовые клетки типа В взаимодействуют с эндимиоцитами, кровеносными сосудами и другими типами клеток, такими как нейрональные предшественники [5]. Важная васкуляризация глиобластом и разнородность с СКГ может способствовать этому типу взаимодействия с эндотелиальными клетками

и имитировать сосудистые ниши нормальных нервных стволовых клеток [5]. Внутри этой ниши обмен факторами, секретируемыми СКГ (*VEGF* — vascular endothelial growth factor), и другими факторами, происходящими из эндотелиальных клеток, позволит поддерживать форму незрелого состояния и самообновления СКГ [5]. Гипоксические ниши также были описаны в перинекротических областях GBM [6]. Действительно, гипоксический контекст и экспрессия транскрипционного фактора *HIF2-альфа* в этом контексте также позволяют поддерживать самообновление и экспрессию определенных маркеров СКГ [6].

Гетерогенность и опухолевые области (резервуары)

Многочисленные данные из литературы, основанные на транскриптомном анализе, выявили геномные аномалии, специфичные для клеточных субпопуляций, что подчеркивает сильную гетерогенность в популяции опухоли [7–9]. Дальнейшая степень гетерогенности заключается в сосуществовании внутри одной опухоли функционально расходящихся областей [10]. Эти области обогащены либо немитотическими и дифференцированными клетками, либо митотическими клетками, экспрессирующими маркеры состояния штамма, такими как *NESTIN*, *OLIG2*, *SOX2*. Эти резервуары при СКГ способствуют прогрессированию GBM [10]. Удивительно, но по сравнению с описанием сосудистых ниш при GBM немитотические области, лишенные незрелых клеток (штаммы/предшественники), часто связаны с важными областями васкуляризации.

Свойства СКГ

Самообновление стволовых клеток является одним из основных их свойств. Действительно, эта функция является критической, поскольку она позволяет запасу стволовых клеток поддерживать жизнь организма. Это свойство является общим для ОСК и обеспечивает их выживание и пролиферацию в опухоли. Обнаружение этого свойства в основном осуществляется с помощью тестов клонального расширения *in vitro* в определенной среде, подходящей для культивирования СКГ, и *in vivo* у мышей с ослабленным иммунитетом. Речь идет о проверке способности опухолевой клетки изменять колонию (*in vitro*) или опухоль (*in vivo*). Опухолевая клетка, обладающая этой функцией самообновления, будет поддерживать данный потенциал во время пассажей, тогда как у предшественника будет гораздо более ограниченный потенциал, а дифференцированная клетка не будет клональной. В этом контексте предельное разбавление клеточной популяции особенно интересно, поскольку оно позволяет оценить клональный потенциал клетки. На сегодняшний день, для обеспечения и сохранения клональной амплификации СКГ необходимы несколько известных сигнальных путей. Среди наиболее известных были описаны пути *Notch*, *Hedgehog*, *Wnt* и *EGFR* или *PDGFR* [11]. Путь *ERK*, непосредственно активируемый рецепторами с тирозинкиназной активностью, особенно интересен, по-

сколько он позволяет через транскрипционный фактор *EGR1* и микроРНК-18a (miR-18a) соединять пути *Notch* и *Hedgehog* [12, 13].

Пластичность СКГ: дифференциация и дедифференциация

В культуре клеток наиболее широко используемый метод индукции дифференцировки СКГ состоит в том, чтобы модифицировать их среду, используя среду, дополненную низким процентом фетальной телячьей сыворотки, обычно между 0,5 и 1 % [13–15]. Это лечение вызывает адгезию СКГ, угасание маркеров стволовых клеток, таких как *CD133*, *CD15*, *OLIG2*, *NANOG*, *SOX2*, сопровождаемое стимуляцией экспрессии *GFAP*, составляющего белок астроцитарного цитоскелета [13–15]. Несмотря на критику, этот метод дифференциации СКГ представляет большой интерес, потому что позволяет выявить важные факторы самообновления или дифференцировки, которые экспрессируются в опухолевых клетках дифференцированных опухолей [13–15]. В ряду факторов окружающей среды костные морфогенетические белки (bone morphogenetic proteins — BMPs) также были описаны как пролодифференцирующие [16]. Дифференцировка СКГ *in vitro* выявила регуляторные факторы, определяющие высвобождение кульги и дифференцировку. Эти факторы miRNAs оказались очень эффективными, среди которых кластер miR-302-367 является одним из наиболее эффективных для подавления пролиферации, стволовых и опухолевых свойств СКГ путем блокирования *CXCR4*, *Hedgehog* и пути клеточного цикла, а также путем индуцирования репрограммирования метаболизма ГАМК [15, 17, 18]. Интересно, что исследования показали способность СКГ дифференцироваться в эндотелиальные клетки и перитциты [19–22]. Это понятие особенно иллюстрирует плюрипотентную природу этих клеток, а также предполагает их вклад в генез сосудистой ниши. С другой стороны, дифференцированные клетки глиобластом проявляют высокую пластичность и могут спонтанно при помещении в среду, позволяющую поддерживать СКГ, экспрессировать стволовые маркеры и приобретать клональные свойства [13]. Это свойство сохраняется в культуре, поскольку дифференцированные СКГ изменяют неприлипающие глиомасферы и повторно экспрессируют маркеры базального состояния путем восстановления всех свойств исходных СКГ в течение нескольких циклов дифференциации/дедифференцировки [13]. Эта способность к дедифференцировке также стимулируется стрессом, таким как лучевая терапия [23].

Устойчивость к лечению

Традиционное лечение глиобластом — это протокол Stupp, который состоит из хирургической резекции, когда это возможно, после чего следует быстрая лучевая терапия и сопутствующая химиотерапия темозоломидом [24, 25]. Хотя он обеспечивает длительное выживание в течение нескольких месяцев, особенно

если у пациента метилирование промотора гена репарации ДНК MGMT, это лечение не предотвращает рецидивы, и эти опухоли остаются летальными [26]. Эта терапевтическая неудача частично приписывается СКГ, которые особенно устойчивы к лечению. До сих пор были описаны несколько механизмов сопротивления. Одно из наиболее известных исследований показало, что клетки *CD133+* находятся после облучения, а *CD133⁺* более чувствительны [27]. С механистической точки зрения, эти клетки были бы более эффективными в восстановлении повреждений ДНК, преимущественно активируя циклические контрольные киназы клеток *CHK1* и *CHK2* [27]. Дедифференцировку, индуцированную лучевой терапией, можно рассматривать как один из механизмов устойчивости клеток GBM, поскольку она позволяет обогатить опухоль с помощью СКГ, наиболее устойчивых клеток [23]. Также появилось несколько гипотез, объясняющих устойчивость к химиотерапии. Действительно, СКГ будут способны уменьшить поглощение лекарств путем увеличения экспрессии ABC (ATP binding cassette), таких как *ABCG2*, регулируемых путем *PTEN/PI3K/AKT* [28, 29]. Другая возможность состоит в том, что СКГ могут быть менее чувствительными к путям, которые вызывают гибель клеток, ограничивая эффекты цитотоксических молекул [30].

Анти-СКГ терапевтические перспективы. Терапия, основанная на дифференциации

Основной причиной неудачи при обычной цитотоксической терапии является клональный отбор устойчивых опухолевых клеток. Благодаря свойствам СКГ, крайне небольшого числа резистентных клеток, данное меньшинство позволит этому достаточному количеству инициировать рецидив опухоли, особенно в благоприятных условиях окружающей среды, таких как воспаление. В этом контексте и для решения проблемы цитотоксического подхода особенно привлекательной стратегией является форсирование эволюции СКГ в немитотические дифференцированные клетки, которые утратят все свойства самообновления. Некоторые клеточные факторы, такие как BMP4, индуцируют дифференцировку СКГ и блокируют их онкогенность [16]. В этом контексте микроРНК могут играть важную роль. Например, экспрессия кластера микроРНК-302-367 в СКГ блокирует самообновление и онкогенность *ex vivo* и *in vivo*. Этот кластер miRNA также индуцирует *in vitro* и *in vivo* паракринный эффект, дифференцирующий и подавляющий опухоль путем переноса в соседние клетки экзосом, содержащих эти микроРНК. Индукция и поддержание экспрессии кластера miR-302-367 в СКГ является незначительным терапевтическим вариантом, который, как было показано, эффективен у мышей. Предусмотрено несколько стратегий переноса данной методики на людей, это использование мезенхимальных стволовых клеток и наночастиц для векторизации кластера miRNA в опухоль или использование терапевтиче-

ских молекул, способных имитировать действие этих микроРНК [31].

Иммунотерапия

Хотя нормальный мозг оснащен системами иммунного влияния, опухоли головного мозга были охарактеризованы как иммуносупрессивные [32]. Успех испытаний иммунотерапии против *PDI*, против *PDL1* или *CTLA4* при меланоме вызвал интерес к разработке этой терапевтической стратегии при GBM [33]. СКГ обладают способностью модулировать иммунную систему путем стимуляции регуляторных Т-клеток, подавляя пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов и способствуя их апоптозу [34]. С другой стороны, СКГ также стимулируют иммуносупрессивный фенотип, подавляя функцию микроглии и макрофагов [35]. Предлагаемые стратегии включают активацию антигенпрезентирующих клеток для стимуляции Т-клеток и разрушения опухолевых клеток головного мозга или использование моноклональных антител, нацеленных на факторы контрольных точек иммунной системы (*PDI*, *PDL1*, *CTLA4*) [36].

Заключение

Глиобластомы представляют собой опухоли, которые особенно трудно поддаются лечению из-за инвазивных свойств, устойчивости к лечению, а также меж- и внутриопухолевой гетерогенности. Эти опухоли обеспечивают отличную систему для изучения важности опухолевых стволовых клеток. Появление этой концепции при данной патологии позволило лучше понять резистентность и рецидив таких опухолей. Проведено много исследований, чтобы попытаться охарактеризовать их свойства, открывая тем самым новые терапевтические перспективы. Тем не менее лучшее понимание механизмов, ответственных за их поддержание, неоднородность, пластичность и эволюцию в опухоли, необходимо для разработки стратегий их уничтожения.

Информация о конфликте интересов.

Конфликт интересов отсутствует.

Информация о спонсорстве.

Данная работа не финансировалась.

Список литературы

- Yuan X., Curtin J., Xiong Y., Liu G., Waschmann-Hogiu S., Farkas D.L., et al. Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme. *Oncogene*. 2004;23(58):9392–400. DOI: 10.1038/sj.onc.1208311
- Lathia J.D., Mack S.C., Mulkerns-Hubert E.E., Valentim C.L., Rich J.N. Cancer stem cells in glioblastoma. *Genes Dev*. 2015;29(12):1203–17. DOI: 10.1101/gad.261982.115
- Ludwig K., Kornblum H.I. Molecular markers in glioma. *J Neurooncol*. 2017;134(3):505–12. DOI: 10.1007/s11060-017-2379-y
- Chen R., Nishimura M.C., Bumbaca S.M., Kharbada S., Forrest W.F., Kasman I.M., et al. A hierarchy of self-renewing tumor-initiating cell types in glioblastoma. *Cancer Cell*. 2010;17(4):362–75. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.12.049
- Calabrese C., Poppleton H., Kocak M., Hogg T.L., Fuller C., Hamner B., et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell*. 2007;11:69–82.
- Seidel S., Garvalov B.K., Wirta V., von Stechow L., Schänzer A., Meletis K., et al. A hypoxic niche regulates glioblastoma stem cells through hypoxia inducible factor 2 alpha. *Brain*. 2010;133:983–95. DOI: 10.1093/brain/awq042
- Sottoriva A., Spiteri I., Piccirillo S.G., Touloumis A., Collins V.P., Marioni J.C., et al. Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2013;110(10):4009–14. DOI: 10.1073/pnas.1219747110
- Sottoriva A., Spiteri I., Shibata D., Curtis C., Tavaré S. Single-molecule genomic data delineate patient-specific tumor profiles and cancer stem cell organization. *Cancer Res*. 2013;73(1):41–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2273
- Patel A.P., Tirosh I., Trombetta J.J., Shalek A.K., Gillespie S.M., Wakimoto H., et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. *Science*. 2014;344(6190):1396–401. DOI: 10.1126/science.1254257
- Debruyne D.N., Turchi L., Burel-Vandenbos F., Fareh M., Almairac F., Virolle V., et al. DCK4 promotes loss of proliferation in glioblastoma progenitor cells through nuclear beta-catenin accumulation and subsequent miR-302-367 cluster expression. *Oncogene*. 2018;37(2):241–54. DOI: 10.1038/onc.2017.323
- Liebelt B.D., Shingu T., Zhou X., Ren J., Shin S.A., Hu J. Glioma stem cells: signaling, microenvironment, and therapy. *Stem Cells Int*. 2016;2016:7849890. DOI: 10.1155/2016/7849890
- Sakakini N., Turchi L., Bergon A., Holota H., Rekima S., Lopez F., et al. A positive feed-forward loop associating EGR1 and PDGFA promotes proliferation and self-renewal in glioblastoma stem cells. *J Biol Chem*. 2016;291(20):10684–99. DOI: 10.1074/jbc.M116.720698
- Turchi L., Debruyne D.N., Almairac F., Virolle V., Fareh M., Neirijnck Y., et al. Tumorigenic potential of miR-18A* in glioma initiating cells requires NOTCH-1 signaling. *Stem Cells*. 2013;31(7):1252–65. DOI: 10.1002/stem.1373
- Patru C., Omaso L., Varlet P., Coulombel L., Raponi E., Cadusseau J., et al. CD133, CD15/SEA-1, CD34 or side populations do not resume tumorigenic properties of long-term cultured cancer stem cells from human malignant glioma. *BMC Cancer*. 2010;10:66. DOI: 10.1186/1471-2407-10-66
- Fareh M., Turchi L., Virolle V., Debruyne D., Almairac F., de-la-Forest Divonne S., et al. The miR 302-367 cluster drastically affects self-renewal and infiltration properties of glioma-initiating cells through CXCR4 repression and consequent disruption of the SHH-GLI-NA-NOG network. *Cell Death Differ*. 2012;19(2):232–44. DOI: 10.1038/cdd.2011.89
- Piccirillo S.G., Vescovi A.L. Bone morphogenetic proteins regulate tumorigenicity in human glioblastoma stem cells. *Ernst Schering Found Symp Proc*. 2006;5:59–81. PMID: 17939295
- El-Habr E.A., Dubois L.G., Burel-Vandenbos F., Bogear A., Lipecka J., Turchi L., et al. A driver role for GABA metabolism in controlling stem and proliferative cell state through GHB production in glioma. *Acta Neuropathol*. 2017;133(4):645–60. DOI: 10.1007/s00401-016-1659-5
- Fareh M., Almairac F., Turchi L., Burel-Vandenbos F., Paquis P., Fontaine D., et al. Cell-based therapy using miR-302-367 expressing cells represses glioblastoma growth. *Cell Death Dis*. 2017;8(3):e2713. DOI: 10.1038/cddis.2017.117
- Yan H., Romero-López M., Benítez L.I., Di K., Frieboes H.B., Hughes C.C.W., et al. 3D Mathematical modeling of glioblastoma suggests that transdifferentiated vascular endothelial cells mediate resistance to current standard-of-care therapy. *Cancer Res*. 2017;77(15):4171–84. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3094
- Mei X., Chen Y.S., Chen F.R., Xi S.Y., Chen Z.P. Glioblastoma stem cell differentiation into endothelial cells evidenced through live-cell imaging. *Neuro Oncol*. 2017;19(8):1109–18. DOI: 10.1093/neuonc/nox016
- Cheng L., Huang Z., Zhou W., Wu Q., Donnola S., Liu J.K., et al. Glioblastoma stem cells generate vascular pericytes to support vessel function and tumor growth. *Cell*. 2013;153(1):139–52. DOI: 10.1016/j.cell.2013.02.021
- Guichet P.O., Guelfi S., Teigell M., Hoppe L., Bakalara N., Bauchet L., et al. Notch1 stimulation induces a vascularization switch with pericyte-like cell differentiation of glioblastoma stem cells. *Stem Cells*. 2015;33(1):21–34. DOI: 10.1002/stem.1767
- Dahan P., Martinez Gala J., Delmas C., Monferran S., Malric L., Zentkowski D., et al. Ionizing radiations sustain glioblastoma cell dedifferentiation to a stem-like phenotype through survivin: possible involvement in radioresistance. *Cell Death Dis*. 2014;5(11):e1543. DOI: 10.1038/cddis.2014.509
- Hegi M.E., Murat A., Lambiv W.L., Stupp R. Brain tumors: molecular biology and targeted therapies. *Ann Oncol*. 2006;17(Suppl. 10):x191–7. DOI: 10.1093/annonc/mdl259
- Stupp R., Mason W.P., van den Bent M.J., Weller M., Fisher B., Taphoorn M.J., et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant

- temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005;352(10):987–96. DOI: 10.1056/NEJMoa043330
- 26 Lechapt-Zalcman E., Levallet G., Dugué A.E., Vital A., Diebold M.D., Menei P., et al. O(6) -methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation and low MGMT-encoded protein expression as prognostic markers in glioblastoma patients treated with biodegradable carmustine wafer implants after initial surgery followed by radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide. *Cancer*. 2012;118(18):4545–54. DOI: 10.1002/cncr.27441
 - 27 Bao S., Wu Q., McLendon R.E., Hao Y., Shi Q., Hjelmeland A.B., et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature*. 2006;444(7120):756–60. DOI: 10.1038/nature05236
 - 28 Bleau A.M., Hambarzumyan D., Ozawa T., Fomchenko E.I., Huse J.T., Brennan C.W., et al. PTEN/PI3K/Akt pathway regulates the side population phenotype and ABCG2 activity in glioma tumor stem-like cells. *Cell Stem Cell*. 2009;4(3):226–35. DOI: 10.1016/j.stem.2009.01.007
 - 29 Eramo A., Ricci-Vitiani L., Zeuner A., Pallini R., Lotti F., Sette G., et al. Chemotherapy resistance of glioblastoma stem cells. *Cell Death Differ*. 2006;13(7):1238–41. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401872
 - 30 Shi L., Zhang S., Feng K., Wu F., Wan Y., Wang Z., et al. MicroRNA-125b-2 confers human glioblastoma stem cells resistance to temozolomide through the mitochondrial pathway of apoptosis. *Int J Oncol*. 2012;40(1):119–29. DOI: 10.3892/ijo.2011.1179
 - 31 Гареев И.Ф., Бейлерли О.А., Павлов В.Н., Zhao S., Chen X., Zheng Z. и др. Наночастицы: новый подход в диагностике и терапии глиальных опухолей головного мозга. Креативная хирургия и онкология. 2019;9(1):66–74. DOI:10.24060/2076-3093-2019-9-1-66-74
 - 32 Platten M., Wick W., Weller M. Malignant glioma biology: role for TGF-beta in growth, motility, angiogenesis, and immune escape. *Microsc Res Tech*. 2001;52(4):401–10. DOI: 10.1002/1097-0029(20010215)52:4<401::AID-JEMT1025>3.0.CO;2-C
 - 33 Khan H., Gucalp R., Shapira I. Evolving concepts: immunity in oncology from targets to treatments. *J Oncol*. 2015;84(7):83. DOI:10.1155/2015/847383
 - 34 Di Tomaso T., Mazzoleni S., Wang E., Soven G., Clavenna D., Franzin A., et al. Immunobiological characterization of cancer stem cells isolated from glioblastoma patients. *Clin Cancer Res*. 2010;16(3):800–13. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2730
 - 35 Wu A., Wei J., Kong L.Y., Wang Y., Priebe W., Qiao W., et al. Glioma cancer stem cells induce immunosuppressive macrophages/microglia. *Neuro Oncol*. 2010;12(11):1113–25. DOI: 10.1093/neuonc/noon082
 - 36 Gardeck A.M., Sheehan J., Low W.C. Immune and viral therapies for malignant primary brain tumors. *Expert Opin Biol Ther*. 2017;17(4):457–74. DOI: 10.1080/14712598.2017.1296132
 - 9 Patel A.P., Tirosh I., Trombetta J.J., Shalek A.K., Gillespie S.M., Wakimoto H., et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. *Science*. 2014;344(6190):1396–401. DOI: 10.1126/science.1254257
 - 10 Debruyne D.N., Turchi L., Burel-Vandenbos F., Fareh M., Almairac F., Virolle V., et al. DOCK4 promotes loss of proliferation in glioblastoma progenitor cells through nuclear beta-catenin accumulation and subsequent miR-302-367 cluster expression. *Oncogene*. 2018;37(2):241–54. DOI: 10.1038/onc.2017.323
 - 11 Liebelt B.D., Shingu T., Zhou X., Ren J., Shin S.A., Hu J. Glioma stem cells: signaling, microenvironment, and therapy. *Stem Cells Int*. 2016;2016:7849890. DOI: 10.1155/2016/7849890
 - 12 Sakakini N., Turchi L., Bergon A., Holota H., Rekima S., Lopez F., et al. A positive feed-forward loop associating EGR1 and PDGFA promotes proliferation and self-renewal in glioblastoma stem cells. *J Biol Chem*. 2016;291(20):10684–99. DOI: 10.1074/jbc.M116.720698
 - 13 Turchi L., Debruyne D.N., Almairac F., Virolle V., Fareh M., Neirijack Y., et al. Tumorigenic potential of miR-18A* in glioma initiating cells requires NOTCH-1 signaling. *Stem Cells*. 2013;31(7):1252–65. DOI: 10.1002/stem.1373
 - 14 Patru C., Omaso L., Varlet P., Coulombel L., Raponi E., Cadusseau J., et al. CD133, CD15/SSEA-1, CD34 or side populations do not resume tumorigenic properties of long-term cultured cancer stem cells from human malignant glioblastoma tumors. *BMC Cancer*. 2010;10:66. DOI: 10.1186/1471-2407-10-66
 - 15 Fareh M., Turchi L., Virolle V., Debruyne D., Almairac F., de-la-Forest Divonne S., et al. The miR 302-367 cluster drastically affects self-renewal and infiltration properties of glioma-initiating cells through CXCR4 repression and consequent disruption of the SHH-GLI-NANOG network. *Cell Death Differ*. 2012;19(2):232–44. DOI: 10.1038/cdd.2011.89
 - 16 Piccirillo S.G., Vescovi A.L. Bone morphogenetic proteins regulate tumorigenicity in human glioblastoma stem cells. *Ernst Schering Found Symp Proc*. 2006;(5):59–81. PMID: 17939295
 - 17 El-Habr E.A., Dubois L.G., Burel-Vandenbos F., Bogeas A., Lipecka J., Turchi L., et al. A driver role for GABA metabolism in controlling stem and proliferative cell state through GHB production in glioma. *Acta Neuropathol*. 2017;133(4):645–60. DOI: 10.1007/s00401-016-1659-5
 - 18 Fareh M., Almairac F., Turchi L., Burel-Vandenbos F., Paquis P., Fontaine D., et al. Cell-based therapy using miR-302-367 expressing cells represses glioblastoma growth. *Cell Death Dis*. 2017;8(3):e2713. DOI: 10.1038/cddis.2017.117
 - 19 Yan H., Romero-López M., Benitez L.I., Di K., Frieboes H.B., Hughes C.C.W., et al. 3D Mathematical modeling of glioblastoma suggests that transdifferentiated vascular endothelial cells mediate resistance to current standard-of-care therapy. *Cancer Res*. 2017;77(15):4171–84. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3094
 - 20 Mei X., Chen Y.S., Chen F.R., Xi S.Y., Chen Z.P. Glioblastoma stem cell differentiation into endothelial cells evidenced through live-cell imaging. *Neuro Oncol*. 2017;19(8):1109–18. DOI: 10.1093/neuonc/nox016
 - 21 Cheng L., Huang Z., Zhou W., Wu Q., Donnola S., Liu J.K., et al. Glioblastoma stem cells generate vascular pericytes to support vessel function and tumor growth. *Cell*. 2013;153(1):139–52. DOI: 10.1016/j.cell.2013.02.021
 - 22 Guichet P.O., Guelfi S., Teigell M., Hoppe L., Bakalara N., Bauchet L., et al. Notch1 stimulation induces a vascularization switch with pericyte-like cell differentiation of glioblastoma stem cells. *Stem Cells*. 2015;33(1):21–34. DOI: 10.1002/stem.1767
 - 23 Dahan P., Martinez-Gala J., Delmas C., Monferran S., Malric L., Zentkowski D., et al. Ionizing radiations sustain glioblastoma cell dedifferentiation to a stem-like phenotype through survivin: possible involvement in radioresistance. *Cell Death Dis*. 2014;5(11):e1543. DOI: 10.1038/cddis.2014.509
 - 24 Hegi M.E., Murat A., Lambiv W.L., Stupp R. Brain tumors: molecular biology and targeted therapies. *Ann Oncol*. 2006;17(Suppl. 10):ix191–7. DOI: 10.1093/annonc/mdl259
 - 25 Stupp R., Mason W.P., van den Bent M.J., Weller M., Fisher B., Taphoorn M.J., et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005;352(10):987–96. DOI: 10.1056/NEJMoa043330
 - 26 Lechapt-Zalcman E., Levallet G., Dugué A.E., Vital A., Diebold M.D., Menei P., et al. O(6) -methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation and low MGMT-encoded protein expression as prognostic markers in glioblastoma patients treated with biodegradable carmustine wafer implants after initial surgery followed by radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide. *Cancer*. 2012;118(18):4545–54. DOI: 10.1002/cncr.27441

References

- 1 Yuan X., Curtin J., Xiong Y., Liu G., Waschmann-Hogiu S., Farkas D.L., et al. Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme. *Oncogene*. 2004;23(58):9392–400. DOI: 10.1038/sj.onc.1208311
- 2 Lathia J.D., Mack S.C., Mulkearns-Hubert E.E., Valentim C.L., Rich J.N. Cancer stem cells in glioblastoma. *Genes Dev*. 2015;29(12):1203–17. DOI: 10.1101/gad.261982.115
- 3 Ludwig K., Kornblum H.I. Molecular markers in glioma. *J Neurooncol*. 2017;134(3):505–12. DOI: 10.1007/s11060-017-2379-y
- 4 Chen R., Nishimura M.C., Bumbaca S.M., Kharbanda S., Forrest W.F., Kasman I.M., et al. A hierarchy of self-renewing tumor-initiating cell types in glioblastoma. *Cancer Cell*. 2010;17(4):362–75. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.12.049
- 5 Calabrese C., Poppleton H., Kocak M., Hogg T.L., Fuller C., Hamner B., et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell*. 2007;11:69–82.
- 6 Seidel S., Garvalov B.K., Wirta V., von Stechow L., Schänzer A., Meletis K., et al. A hypoxic niche regulates glioblastoma stem cells through hypoxia inducible factor 2 alpha. *Brain*. 2010;133:983–95. DOI: 10.1093/brain/awq042
- 7 Sottoriva A., Spiteri I., Piccirillo S.G., Touloumis A., Collins V.P., Marioni J.C., et al. Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110(10):4009–14. DOI: 10.1073/pnas.1219747110
- 8 Sottoriva A., Spiteri I., Shibata D., Curtis C., Tavare S. Single-molecule genomic data delineate patient-specific tumor profiles and cancer stem cell organization. *Cancer Res*. 2013;73(1):41–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2273

- 27 Bao S., Wu Q., McLendon R.E., Hao Y., Shi Q., Hjelmeland A.B., et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature*. 2006;444(7120):756–60. DOI: 10.1038/nature05236
- 28 Bleau A.M., Hambarzumyan D., Ozawa T., Fomchenko E.I., Huse J.T., Brennan C.W., et al. PTEN/PI3K/Akt pathway regulates the side population phenotype and ABCG2 activity in glioma tumor stem-like cells. *Cell Stem Cell*. 2009;4(3):226–35. DOI: 10.1016/j.stem.2009.01.007
- 29 Eramo A., Ricci-Vitiani L., Zeuner A., Pallini R., Lotti F., Sette G., et al. Chemotherapy resistance of glioblastoma stem cells. *Cell Death Differ*. 2006;13(7):1238–41. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401872
- 30 Shi L., Zhang S., Feng K., Wu F., Wan Y., Wang Z., et al. MicroRNA-125b-2 confers human glioblastoma stem cells resistance to temozolomide through the mitochondrial pathway of apoptosis. *Int J Oncol*. 2012;40(1):119–29. DOI: 10.3892/ijo.2011.1179
- 31 Gareev I.F., Beylerli O.A., Pavlov V.N., Shiguang Zhao, Xin Chen, Zhixing Zheng, et al. Nanoparticles: a new approach to the diagnosis and treatment of cerebral glial tumours. *Creative Surgery and Oncology*. 2019;9(1):66–74 (In Russ.). DOI: 10.24060/2076-3093-2019-9-1-66-74
- 32 Platten M., Wick W., Weller M. Malignant glioma biology: role for TGF-beta in growth, motility, angiogenesis, and immune escape. *Microsc Res Tech*. 2001;52(4):401–10. DOI: 10.1002/1097-0029(20010215)52:4<401::AID-JEMT1025>3.0.CO;2-C
- 33 Khan H., Gucalp R., Shapira I. Evolving concepts: immunity in oncology from targets to treatments. *J Oncol*. 2015;8473:83. DOI:10.1155/2015/847383
- 34 Di Tomaso T., Mazzoleni S., Wang E., Soven G., Clavenna D., Franzin A., et al. Immunobiological characterization of cancer stem cells isolated from glioblastoma patients. *Clin Cancer Res*. 2010;16(3):800–13. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2730
- 35 Wu A., Wei J., Kong L.Y., Wang Y., Priebe W., Qiao W., et al. Glioma cancer stem cells induce immunosuppressive macrophages/microglia. *Neuro Oncol*. 2010;12(11):1113–25. DOI: 10.1093/neuonc/nuq082
- 36 Gardeck A.M., Sheehan J., Low W.C. Immune and viral therapies for malignant primary brain tumors. *Expert Opin Biol Ther*. 2017;17(4):457–74. DOI: 10.1080/14712598.2017.1296132