

ТИТОВ К.С., ОГАНЕСЯН А.П., РОТИН Д.Л., РЯБЧИКОВ Д.А., ЛЕПКОВА Н.В.
TITOV K.S., OGANESYAN A.P., ROTIN D.L., RYABCHIKOV D.A., LEPKOVA N.V.

КЛИНИЧЕСКАЯ МАММОЛОГИЯ

Опухолевые стволовые клетки при раке молочной железы. Роль в патогенезе и подходы к терапии

The tumor stem cells in breast cancer.

The role in pathogenesis and approaches to therapy

Цитирование: TITOV K.S., OGANESYAN A.P., ROTIN D.L., RYABCHIKOV D.A., LEPKOVA N.V. The tumor stem cells in breast cancer. The role in pathogenesis and approaches to therapy. Malignant Tumours 2016; 2: 22–27.

DOI: 10.18027/2224–5057–2016–2–22–27

Резюме

Рак молочной железы занимает лидирующее место среди всех онкологических заболеваний у женщин в мире, в т.ч. и в России. Несмотря на большие достижения в комплексном лечении, к сожалению, отдаленные метастазы рака молочной железы могут развиваться у больных на ранних стадиях заболевания. Данный феномен может быть объяснен новой теорией опухолевых стволовых клеток, способных в течение неограниченного периода времени делиться и поддерживать дальнейшее развитие первичной опухоли. В настоящем обзоре представлены концепция опухолевых стволовых клеток, их клиническое и прогностическое значение в патогенезе рака молочной железы, влияние на развитие резистентности к цитостатическим препаратам, а также перспективы новых и эффективных стратегий и подходов к системной противоопухолевой терапии рака молочной железы.

Abstract

The breast cancer takes the leading position among all women cancers in the world and the Russian Federation. Despite great advances in treatment, unfortunately, distant metastasis of breast cancer may develop in patients at early stages of disease. This phenomenon can be explained by the new theory of tumor stem cells, capable of an unlimited period of time to share and support the development of a primary tumor. This review presents the concept of tumor stem cells, their clinical and prognostic significance in the breast cancer pathogenesis, the impact on the development of resistance to cytotoxic drugs and prospects for new and effective strategies and approaches to systemic anticancer therapy for breast cancer.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

опухолевые стволовые клетки, рак молочной железы, сигнальный путь Notch, CD44+/CD24 low фенотип, резистентность к химиотерапии

KEY WORDS

tumor stem cells, breast cancer, Notch signaling pathway, CD44+/CD24 low phenotype, chemotherapy resistance

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Титов Константин Сергеевич – д.м.н., заведующий онкохирургическим отделением опухолей кожи и мягких тканей Московского клинического научного центра Департамента здравоохранения г. Москвы, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова Минздрава РФ, e-mail: ks-titov@mail.ru

CONTACT INFORMATION

Titov Konstantin Sergeevich – MD, RhD, DSc, head of the Oncosurgery Department tumors of skin and soft fabrics in Moscow Clinical Research Centr, assistant professor of the Department of Oncology and Radiation Therapy Russian National Medical University, e-mail: ks-titov@mail.ru

Оганесян Ани Погосовна – студентка 6 курса лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова Минздрава РФ, e-mail: ani101192@mail.ru

Ротин Даниил Леонидович – д.м.н., заведующий патологоанатомическим отделением Московского клинического научного центра Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: d.rotin@mknc.ru

Рябчиков Денис Анатольевич – к.м.н., старший научный сотрудник хирургического отделения опухолей молочных желез Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина Минздрава РФ, e-mail: dr.denisr@mail.ru

Лепкова Наталья Васильевна – к.м.н., доцент кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова Минздрава РФ, e-mail: eczema70@mail.ru

Oganesyan Ani Pogosovna – student of the Russian National Medical University, e-mail: ani101192@mail.ru

Rotin Daniil Leonidovich – MD, RhD, DSc, head of the Patomorphologic Department in Moscow Clinical Research Centr, e-mail: d.rotin@mknc.ru

Ryabchikov Denis Anatolevich – MD, RhD, assistant professor Oncosurgery Department tumors of breast N. N. Blokhin Russian Cancer Research Centre, e-mail: dr.denisr@mail.ru

Lepkova Natalia Vasilevna – MD, RhD, assistant professor of the Department of Oncology and Radiation Therapy Russian National Medical University, e-mail: eczema70@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенным видом злокачественных новообразований среди женщин во всем мире, что составляет 25% (1,7 миллиона) новых случаев заболевания и 15% (более 0,5 миллионов) смертей от всех видов рака в год [1]. За последние десятилетия, несмотря на прогресс в лечении РМЖ с помощью комбинированного метода с учетом морфологических и молекулярных особенностей опухоли, отдаленные метастазы могут развиваться у 30–90% пациентов с первичным РМЖ, в том числе – на ранних стадиях. Данный феномен может объясняться так называемой «теорией опухолевых стволовых клеток (ОСК)» [2]. Концепция ОСК берет начало в 1990 году и основывается на положении, что нормальная стволовая клетка подвергается дифференцировке в другие более специализированные клетки. Модель ОСК постулирует иерархическую организацию клеток опухоли, в которой только небольшая популяция клеток, а именно «опухолевые стволовые клетки» – ответственна за поддержание онкогенеза и обеспечивает гетерогенность опухоли. ОСК также обладают свойствами нормальных стволовых клеток – самообновление и дифференцировка [3]. Аналогично нормальным стволовым клеткам, ОСК проявляют способность к неограниченному самообновлению и дифференцировке по многим направлениям, обладают резистентностью к химиотерапии. ОСК экспрессируют специфический набор иммуногистохимических маркеров, которые позволяют выделять их из массы других клеток. Также ОСК селективно поддерживают способность к он-

когенезу и росту гетерогенной опухоли, содержащей некую необходимую массу дифференцированных клеток злокачественной опухоли. В число возможных причин повышенной устойчивости ОСК к химиопрепаратам входят селективная экспрессия некоторых членов семейства транспортеров множественной лекарственной устойчивости, повышенная экспрессия антиапоптотических молекул, повышенная способность к регенерации ДНК, активация характерных для стволовых клеток сигналов выживания, в частности Notch, Hedgehog (Hh), Wnt и др. [4]. Признано, что у нормальных стволовых клеток существуют так называемые ниши – физиологическое микроокружение, состоящее из специализированных клеток, которые участвуют в регуляции функционирования стволовых клеток через обмен различного рода сигналами. Данное микроокружение предотвращает истощение стволовых клеток, одновременно защищая организм хозяина от их избыточной пролиферации. Предполагается, что не только стромальная ниша действует на клетки рака, но и напротив: опухолевые клетки, в том числе и ОСК, способны влиять на строму, используя ее для своего развития, в частности для создания ниши в местах будущего метастазирования [5].

РОЛЬ ОСК В ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ОСК молочной железы (ОСК-М) несут фенотип CD44+/CD24 low и имеют гиперэкспрессию альдегид-дегидрогеназы 1-го типа (ALDH1) – фермента детоксикации, кото-

рый регулирует окисление внутриклеточных альдегидов и играет важную роль в дифференцировке стволовых клеток [6]. Высокая экспрессия ALDH1 коррелирует с более агрессивными подтипами РМЖ [7]. В работах разных авторов было показано, что более высокая экспрессия ALDH1 также связана с резистентностью к химиотерапии и низкой выживаемостью [8].

Важным звеном патогенеза РМЖ, а также причиной возникновения резистентности к системной терапии и увеличению числа ОСК-М в процессе лечения, являются сигнальные пути, такие как Notch, Hedgehog и Wnt [9].

Наиболее важную роль в канцерогенезе РМЖ играет консервативный внутриклеточный сигнальный путь Notch, который активируется при взаимодействии трансмембранного лиганда семейства Jagged (Jagged 1 и 2) и семейства Delta (Delta-like 1, 3 и 4) с Notch рецепторами (Notch 1 и 4) [10]. Далее он активируется протеолитическим расщеплением внутриклеточного домена, который мигрирует в ядро и, образуя комплекс с ДНК, выполняет функцию транскрипционного фактора и участвует в экспрессии генов Hes1 и Hes5, а также Hey1 и Hey2 [11]. Основные пути регуляции апоптоза, усиления пролиферации, эпителиально-мезенхимальной трансформации и ослабления дифференцировки обеспечиваются за счет сигнального пути Notch. Эпителиальные клетки соединены между собой различными видами межклеточных связей. Первым шагом в развитии эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) является разрыв этих связей. После этого клетки начинают приобретать характеристики мезенхимальных клеток, в результате чего происходит изменение их подвижности с последующим движением в более удаленные места, что способствует облегчению процесса метастазирования и развития новых опухолей [12].

Развитие резистентности к химиотерапии при РМЖ также сопряжено с явлением ЭМТ. Главным событием, индуцирующим ЭМТ, является ослабление межклеточных адгезионных контактов за счет мембранных молекул – кадгеринов, окклюдина, клаудина и десмоплакина [13]. Утрата клетками эпителиальных черт в ходе ЭМТ может быть рассмотрена как вариант их дедифференцировки, при этом приобретение опухолевой клеткой фенотипа ОСК также является частичной дедифференцировкой.

Таким образом, предполагают, что усиление процессов ЭМТ трансформированными эпителиальными клетками может приводить к увеличению доли ОСК в злокачественных опухолях.

Основополагающим событием в процессе развития ЭМТ является утрата центральной молекулы межклеточных адгезионных контактов – Е-кадгерина.

Потеря или снижение уровня экспрессии Е-кадгерина приводит к увеличению инвазивности опухолевой ткани. Это наблюдается во многих эпителиальных опухолях, вклю-

чая большинство случаев и вариантов РМЖ. Сниженная экспрессия Е-кадгерина практически всегда выявляется (>90%) при дольковом РМЖ [14]. Пациенты с пониженной экспрессией Е-кадгерина в опухоли РМЖ имеют более низкие значения общей выживаемости [15]. Кроме того, это может служить еще одним прогностическим маркером при тройном негативном раке [16].

Исследования показали, что при подавлении экспрессии Е-кадгерина в клетках линии РМЖ количество ОСК-М увеличивалось [17].

Таким образом, можно заключить, что сохранение экспрессии Е-кадгерина препятствует прохождению трансформированными эпителиальными клетками ЭМТ, следовательно, приобретению черт ОСК. Предотвращение утраты эпителиальной дифференцировки и, в частности, Е-кадгерина представляется перспективным подходом к разработке новых методов борьбы с РМЖ.

ДИАГНОСТИКА И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ОСК ПРИ РМЖ

Впервые в 2003 году был идентифицирован и выделен фенотип CD44+/CD24 low [18]. CD44 представляет собой клеточный поверхностный гликопротеид, являющийся рецептором для гиалуронана (ГА) – главного компонента внеклеточного матрикса. В результате связывания ГА, CD44 активирует много рецепторных тирозинкиназ, включая EGFR и ERBB2. CD44 также играет важную роль в инвазии множества опухолевых клеток, включая клетки молочной железы, а также в процессах пролиферации и ангиогенеза [19]. Другой поверхностный гликопротеид CD24 экспрессируется на низком уровне, увеличивая способность опухоли к росту и метастазированию [20].

Другой недавно признанный маркер, альдегид-дегидрогеназа 1-го типа (ALDH1), состоит из семейства цитозольных ферментов, участвующих в окислении внутриклеточных альдегидов, и играющий важную роль в дифференцировке стволовой клетки. Высокая экспрессия ALDH1 коррелирует с более агрессивными подтипами РМЖ [21].

Совсем недавно было описано определение маркеров, включающих снижение активности протеосомы 26S, $\alpha 6$ и $\beta 1$ -интегринов [22].

Кроме того, ОСК-М могут быть выделены путем формирования сферических кластеров (mammospheres) в суспензионных культурах в результате их способности к самообновлению [23]. Необходимо также отметить, что они могут быть определены так называемыми клетками «боковой популяции», которые обладают способностью выкачивать флуоресцентный краситель H333342 через ABCG2 – трансмембранный транспортер, который гиперэкспрессирован в ОСК-М [24].

Успешное изолирование ОСК-М привело к исследованию их потенциального ответа на химиотерапевтические препараты, обычно используемые у пациентов. Несколько доклинических исследований свидетельствуют, что ОСК относительно устойчивы к противоопухолевым препаратам. Большинство из этих исследований были выполнены *in vitro* в изолированных клетках РМЖ или единичной клеточной взвеси, установленной при биопсии РМЖ или *in vivo* на моделях опухолей молочной железы. Несколько исследований, проведенных на моделях РМЖ, продемонстрировали поддержание жизнедеятельности или значительное увеличение CD44+/CD24 low клеток после проведения химиотерапии. Одно исследование продемонстрировало, что через одну неделю после введения паклитаксела/эпирубина в мышинные клетки РМЖ подавляющее большинство клеток, сохранивших жизнеспособность, экспрессировали фенотип ОСК-М (CD44+/CD24 low) [25].

В связи с тем, что комбинация паклитаксела/эпирубина наиболее часто используется в качестве первой линии лечения РМЖ, поддержание жизнеспособности ОСК, которые затем могут продолжать генерировать больше опухолевых клеток, может быть причиной рецидивов после лечения данными препаратами [26].

По данным некоторых исследований, после проведения иммуногистохимического анализа наличия маркеров CD44+/CD24 низкий 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 [27]. В исследовании F. Yu et al. выявлено, что метастазы в плевре у больных, ранее получавших химиотерапию, содержали большое количество CD44+/CD24 low клеток, что, скорее всего, обусловлено резистентностью стволовых клеток к цитостатическим препаратам, которые и стали причиной метастатического поражения плевры этих пациенток [28].

Последние данные показывают, что ОСК действуют как субпопуляция резистентных клеток, которые выживают на фоне химиотерапии и восстанавливают гетерогенную популяцию опухолевых клеток. Несколько версий могут объяснить химиорезистентность. Во-первых, стволовые клетки являются неактивно-делящимися; они медленно пролиферируют в фазе G0 клеточного цикла и, следовательно, нечувствительны к химиотерапевтическим препаратам, работающим в активных фазах клеточного цикла. Кроме того, способствующим фактором может быть устойчивость к апоптозу из-за повышенной экспрессии антиапоптотических белков, таких как Bcl-2. К тому же ОСК экспрессируют высокие уровни multifunctional efflux pumps с ATP-связывающей кассеты семейства генов, которые, как известно, играют

важную роль при множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток. В частности, они экспрессируют транспортеры, кодирующие гены ABCG2 и ABCB1, которые составляют основу генов множественной лекарственной устойчивости [29]. Также необходимо отметить, что фермент ALDH1, который является молекулярным маркером ОСК-М, способен метаболизировать химиотерапевтические препараты, такие как циклофосфамид, который широко используется в первой линии терапии РМЖ [30]. В исследовании P. Matcato et al. определено прогностическое значение концентрации фермента ALDH1 в клетках РМЖ. Высокое содержание изоформы A3 этого фермента ассоциируется с низкими показателями общей и безрецидивной выживаемости больных РМЖ [31].

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 ОСК-М играют ключевую роль в патогенезе данного заболевания и требуют разработки новых методов лечения, направленных на девитализацию ОСК-М путем воздействия на мембранные маркеры и сигнальные молекулы, прерывания сигнальных внутриклеточных путей и изменения состава и функций микроокружения.

ПОДХОДЫ К ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ, НАПРАВЛЕННОЙ НА ОСК

Предшествующие исследования показали, что ОСК-М составляют небольшую популяцию клеток в опухоли РМЖ, которые являются одновременно и устойчивыми к химиотерапии, и источником роста опухоли. Теоретически, если эти клетки были бы удалены, то остальные клетки не смогли бы обеспечивать новый рост опухоли. Эта концепция привела к разработке различных потенциальных препаратов, в основном ориентированных на молекулярные пути обновления и регуляции ОСК, которые в соответствии с гипотезой ОСК вызывают неуправляемое образование опухоли. Первой концепцией является воздействие на поверхностные маркеры ОСК. Примером такого подхода может быть воздействие на CD44+ с помощью специфического антитела P245, что приводит к блокированию роста ксенотрансплантатов РМЖ человека [32]. Аналогично, направленный на ALDH1 маркер ОСК с помощью специфических CD8+ T-клеток удаляет число ОСК и блокирует рост и метастазирование в ксенотрансплантате иммунодефицитных мышей [33].

Выше сказанное свидетельствует о том, что сочетание химиотерапевтических препаратов либо со специфическими антителами или с T-клеточной направленной иммунотерапией, которая избирательно воздействует на поверх-

ностные маркеры ОСК, может иметь потенциальное преимущество.

Notch-сигнальный путь является одной из наиболее привлекательных потенциальных терапевтических мишеней, в результате его функционального значения, а также из-за абберантной экспрессии внутриклеточного домена Notch и при внутрипротоковом РМЖ in situ, и при инвазивном внутрипротоковом РМЖ [34]. Notch-рецепторы 1 и 4 связываются со специфическими лигандами, которые вызывают их расщепление ферментом γ -секретазой, что приводит к активации генов, участвующих в клеточной пролиферации [35]. Ранее леченые культуры маммосфер, выделенные от образцов РМЖ in situ с помощью ингибитора Notch γ -секретазы или Notch-4 нейтрализующего антитела, показали снижение активности маммосфер [36]. Эти данные позволяют предположить, что Notch-ингибиторы могут быть использованы в качестве химиопрофилактики при РМЖ in situ в целях снижения прогрессирования заболевания. В исследовании H. Hirsch et al. (2009) установлено, что метформин избирательно уменьшает количество CD44⁺/CD24^{low} клеток в мышинных ксенотрансплантатах РМЖ, а в ком-

бинации с антрациклинами приводит к более значительной потере массы опухоли по сравнению с применением каждого из препаратов в режиме монотерапии и предотвращает развитие рецидивов [37]. Противоопухолевый эффект метформина обоснован возможностью препарата активировать аденозинмонофосфат-активируемую протеинкиназу. Также в недавних исследованиях было показано, что противовоспалительный препарат антагонист IL-8, CXCR2 – репертаксин, обладает способностью блокировать генерированные микроокружением сигналы и вызывать апоптоз ОСК-М в мышинных ксенотрансплантатах [38].

В заключении хотелось бы отметить, что представленный анализ научных исследований по данным литературы указывает на перспективность дальнейшего изучения роли опухолевых стволовых клеток при раке молочной железы для лучшего понимания механизмов патогенеза, опухолевой прогрессии, агрессивности течения и развития лекарственной резистентности к цитостатикам, а также на основании этого разработки новых стратегий лекарственной терапии больных с одной из самых часто встречаемой злокачественной опухолью у женщин во всем мире.

ЛИТЕРАТУРА • REFERENCES

1. Visvander J. E., Lindeman G. J. // *Cell Stem Cell*. 2012. V.10. N5. P. 717–728.
2. Luo Y., Zhou X., Yakisich J. S. // *Onco Targets Ther*. 2014. V. 7. P. 1129–1134.
3. Plaks V., Kong N., Werb Z. // *Cell Stem Cell*. 2015. V. 16. № 3. P. 225–238.
4. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J., Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J. Clin* 2015;65:87–108.
5. 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.
6. Lee H. E., Kim J. H., Kim Y. J. et al. An increase in cancer stem cell population after primary systemic therapy is a poor prognostic factor in breast cancer. *Br J Cancer* 2011;104:1730–8.
7. Morimoto K., Kim S. J., Tanei T. et al. Stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1-positive breast cancers are characterized by negative estrogen receptor, positive human epidermal growth factor receptor type 2, and high Ki67 expression. *Cancer Sci* 2009;100:1062–8.
8. Tanei T., Morimoto K., Shimazu K. et al. Association of breast cancer stem cells identified by aldehyde dehydrogenase 1 expression with resistance to sequential Paclitaxel and epirubicin-based chemotherapy for breast cancers. *Clin Cancer Res* 2009; 15:4234–41.
9. Peitzsch C, Kurth I, Kunz-Schughart L, Baumann M, Dubrovskaya A. Discovery of the cancer stem cell related determinants of radioresistance. *Radiother Oncol* 2013;108:378–387.
10. Schwanbeck R., Martini S., Bernoth K. et al. // The Notch signaling pathway: Molecular basis of cell content dependency // 2011. 90 (6–7). P. 572–81.
11. Eiken H. M., Adams R. M. // Dynamics of endothelial cell behavior in sprouting angiogenesis // *Curr Opin cell Biol*. – 2010. – 22(5). P. 617–25.
12. Louvi A., Artavanis-Tsakonas S. // Notch and disease: a growing field. *Semin Cell Dev Biol* 2012; 23(4): 473–80.
13. Zhai B, Yan HX, Liu SQ, et al. Reduced expression of E-cadherin/catenin complex in hepatocellular carcinomas. *World J Gastroenterol* 2008;14:5665–73.

14. Deus Moura R, Wludarski SC, Carvalho FM, et al. Immunohistochemistry applied to the differential diagnosis between ductal and lobular carcinoma of the breast. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013;21:1–12.
15. Dabbs DJ, Schnitt SJ, Geyer FC, et al. Lobular neoplasia of the breast revisited with emphasis on the role of E-cadherin immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol* 2013;37: e1–e11.
16. Tang D, Xu S, Zhang Q, et al. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer. *Med Oncol* 2012;29:526–33.
17. 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.— P. 645–59.
18. Perrone G, Gaeta LM, Zagami M, Nasorri F, Coppola R, Borzomati D, et al. In situ identification of CD44+/CD24– cancer cells in primary human breast carcinomas. *PLoS One* 2012;7: e43110.
19. Götte M, Yip GW. Heparanase, hyaluronan, and CD44 in cancers: a breast carcinoma perspective. *Cancer Res* 2006;66:10233–10237.
20. Schabath H, Runz S, Joumaa S, Altevogt P. CD24 affects CXCR4 function in pre-B lymphocytes and breast carcinoma cells. *J Cell Sci* 2006;119(Pt 2):314–325.
21. Balicki D. Moving forward in human mammary stem cell biology and breast cancer prognostication using ALDH1. *Cell Stem Cell* 2007;1:485–487.
22. Shackleton M., Vaillanl F., Simpson K. J. et al. Generation of a functional mammary gland from a single stem cell // *Nature*. 2006. Vol. 439. P. 84–88.
23. Ponti D., Costa A., Zaffaroni N. et al. Isolation and in vitro propagation of tumorigenic breast cancer cells with stem/progenitor cell properties // *Cancer Res*. 2005. Vol. 65. P. 5506–5511.
24. Patrawala L., Calhoun T., Schneider-Broussard R et al. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas ABCG2+ and ABCG2– cancer cells are similarly tumorigenic // *Cancer Res*. 2005. Vol. 65. P. 6207–6219.
25. Li H. Z., Yi T. B., Wu Z. Y. Suspension culture combined with chemotherapeutic agents for sorting of breast cancer stem cells // *BMC Cancer*. 2008. Vol. 8. P. 135.
26. Creighton C. J., Li X., Landis M. et al. Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009. Vol. 106. P. 13820–13825.
27. 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.
28. 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.
29. Dean M., Fojo T., Bates S. Tumour stem cells and drug resistance // *Nat. Rev. Cancer*. 2005. Vol. 5. P. 275–284.
20. Smalley M. J., Clarke R. B. The mammary gland «side population»: A putative stem/progenitor cell marker? // *J Mammary Gland. Biol. Neoplasia*. 2005. Vol. 10. P. 37–47.
31. Marcato 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.
32. Marangoni E., Lecomte N., Durand L. et al. CD44 targeting reduces tumour growth and prevents post-chemotherapy relapse of human breast cancers xenografts // *Br. J. Cancer*. 2009. Vol. 100. P. 918–922.
33. Visus C., Wang Y., Lozano-Leon A. et al. Targeting ALDHbright human carcinoma-initiating cells with ALDH1A1-specific CD8+ T Cells // *Clin. Cancer Res*. 2011. Vol. 17. P. 6174–6184.
34. Stylianou S., Clarke R. B., Brennan K. Aberrant activation of notch signaling in human breast cancer // *Cancer Res*. 2006. Vol. 66. P. 1517–1525.
35. Sjolund J., Manetopoulos C., Stockhausen M. T., Axelson H. The Notch pathway in cancer: Differentiation gone awry // *Eur. J. Cancer*. 2005. Vol. 41. P. 2620–2629.
36. Farnie G., Clarke R. B., Spence K. et al. Novel cell culture technique for primary ductal carcinoma in situ: Role of Notch and epidermal growth factor receptor signaling pathways // *J. Natl. Cancer Inst.* 2007. Vol. 99. P. 616–627.
37. 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.
38. 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.