РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ЛЕЙКОЗНЫМИ И НОРМАЛЬНЫМИ КРОВЕТВОРНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ

Н.И. Дризе

Гематологический научный центр РАМН, Москва

Неоплазии любой этиологии обусловлены существованием редкой популяции клеток, способных к неограниченному самоподдержанию; эти клетки необходимы для инициации и поддержания опухоли. В случае последующего возникновения лейкоза такие клетки называют лейкозными стволовыми клетками (ЛСК). Для острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) показано, что ЛСК способны переносить и инициировать развитие опухоли у иммунодефицитных мышей [1, 2]. Исследования последних лет выявили очень большое фенотипическое и функциональное сходство между нормальными кроветворными стволовыми клетками (СКК) и ЛСК [3, 4]. Особенно важно, что обе популяции клеток используют одинаковые механизмы, обеспечивающие их самоподдержание [5, 6]. Такие гены, как *HEDGEHOG*, *WNT*, *NOTCH*, *RAR* $\pm$ и *BMI1*, стимулирующие пролиферацию опухолевых клеток, используются также нормальными СКК для самоподдержания [7–11]. Гены, супрессирующие пролиферацию опухолевых клеток, такие как *TP53*, *p16^{INK4a}* и *p19^{ARF}*, ингибируют также самоподдержание СКК [12, 13]. Возникают ли ЛСК из СКК или же образуются из каких-то других клеток, неизвестно, однако они либо наследуют, либо приобретают свойства нормальных СКК, обеспечивающие их самоподдержание.

Эрадикация ЛСК — решающий момент любой успешной антиопухолевой терапии. Наличие ЛСК объясняет, почему терапия, успешно удаляющая опухолевый клон, очень редко полностью излечивает заболевание. Рецидив является одной из главных причин гибели больных, особенно при ОМЛ. Постоянно разрабатывающиеся методы количественного выявления минимальной остаточной болезни основаны на предположении, что удаление практически всех опухолевых клеток может привести к излечению болезни. Все современные протоколы тестирования, включая самый надежный количественный метод полимеразной цепной реакции в реальном времени, не обладают достаточной чувствительностью для гарантированного выявления небольшого числа опухолевых клеток. Например, были отмечены рецидивы у больных с хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ), успешно лечавшихся Иматинибом [14] и находящихся не только в цитогенетической, но и в молекулярной ремиссии. Возникает вопрос: возможна ли терапия, убивающая избирательно ЛСК, но не затрагивающая нормальных стволовых клеток этой же ткани.

Для разработки терапии, элиминирующей исключительно ЛСК и не влияющей на здоровые СКК, прежде всего необходимо найти принципиальные различия между этими клетками. Для этого используются различные методы. Изучение иммунофенотипических характеристик СКК и ЛСК показало, что очень часто они имеют сходный фенотип. И те и другие экспрессируют на своей поверхности маркеры CD34, но не CD71 и HLA-DR. С другой стороны, СКК экспрессируют Thy1 (CD70) и c-Kit (CD117), не выявленные на ЛСК, кото-

рые, в свою очередь, несут на поверхности CD123 и рецептор к интерлейкину 3 α , которых нет на СКК [15–17]. У некоторых больных ОМЛ на поверхности цитогенетически aberrантных ЛСК экспрессируются CD34 и CD90, в других случаях ЛСК бывают CD34-негативными [18–20]. У больных острым промиелоцитарным лейкозом ЛСК с транслокацией t(15;17) также обнаруживаются среди CD34-CD38+, но не CD34+CD38-клеток [2, 18]. Таким образом, не существует единого фенотипа для ЛСК и, возможно, различия между больными являются правилом, а не исключением. Это может быть связано с использованием нескольких протоколов для выделения клеточных популяций и различиями в методах тестирования. Необходимо помнить, что любая «чистая» популяция сортированных клеток, как правило, гетерогенна как функционально, так и по некоторым маркерам. Аналогично при выделении популяций нормальных СКК выявляются различия в специфических свойствах СКК, таких как самоподдержание, способность находиться в состоянии покоя и пролиферации. На сегодняшний день есть скорее характеристики «состояния СКК», чем их характеризованный «портрет» [21]. При изучении профиля экспрессии генов у нормальных СКК выявляются такие же несоответствия, как и при изучении фенотипа, что, скорее всего, пока связано с несопадением методов получения чистых популяций клеток. Так, сравнение «портрета геной экспрессии СКК» тремя независимыми лабораториями выявило всего 3 общих гена среди не менее 20 000 изученных [22]. Тем не менее, метод сравнения уровня экспрессии сразу нескольких тысяч генов с помощью специализированных чипов в настоящее время является наиболее продуктивным. При этом с помощью клеточного сортера выделяются относительно фенотипически чистые популяции клеток, несущих специфические маркеры стволовых, затем из них выделяют РНК и проводят анализ уровня экспрессии генов, сравнивая опухолевые и нормальные клетки. Благодаря этим анализам и было показано, что популяция CD34+CD38-клеток больных ОМЛ очень часто клональна и содержит клетки, инициирующие лейкоз у иммунодефицитных мышей. Клетки из популяции CD34+CD38+ не способны вызывать заболевание у таких мышей. В популяции клеток нормальных доноров, несущих те же маркеры, также находится большинство стволовых клеток [23–25]. Обе анализируемые популяции используют одни и те же гены для самоподдержания. С помощью методов увеличения экспрессии или, наоборот, выключения генов в клеточных линиях были идентифицированы гены факторов транскрипции, регуляции клеточного цикла, самоподдержания и дифференцировки СКК [26, 27].

Такие гены, как *SCL*, *LMO-2*, *GATA-2* и *AML-1* (также называемый *CBFA2*, или *RUNX1*), отвечающие за ранние этапы кроветворения, могут неправильно регулироваться под воздействием транслокаций, возникающих при различных гемопоэтических заболеваниях. Напри-

мер, ген *SCL*, кодирующий транскрипционный фактор *SCL-TAL1*, — наиболее частая мишень хромосомных аберраций при детских Т-клеточных острых лимфобластных лейкозах [28]. *SCL* в норме экспрессируется в СКК и ранних кроветворных предшественниках, его уровень снижается по мере дифференцировки [29]. Повышенная экспрессия этого гена в сочетании с другими онкогенами приводит к опухолевой трансформации [30]. Аналогично транскрипционный фактор *AML-1*, необходимый для нормального кроветворения, в результате транслокации t(8;21) образует сливной ген *AML-ETO*, являющийся одной из наиболее часто встречающихся аберраций при ОМЛ [31]. Конститутивная экспрессия этого гена повышает частоту встречаемости самоподдерживающихся клеток [32] и при наличии дополнительной мутации создает опухолевый фенотип [33].

Другие транскрипционные факторы, к которым относятся гены гомеобокса (*Hox*), включая *HoxB4* и гены семейства *Wnt*, играют важную роль в регуляции самоподдержания и дифференцировки СКК [19, 34]. *HoxB4* участвует в пролиферации СКК без потери их свойств и в то же время поддерживает их способность дифференцироваться в лимфоидном и миелоидном направлениях. По мере дифференцировки экспрессия этого гена исчезает [35, 36]. Неправильная регуляция экспрессии *HoxB4* и *HoxA9* очень часто наблюдается при ОМЛ [37].

Одним из важнейших сигнальных путей, участвующих в самоподдержании СКК, является *Notch/Jagged*. У некоторых больных острым Т-клеточным лейкозом была выявлена транслокация, приводящая к реаранжировке гена *Notch* [38]. Другие факторы транскрипции, к которым относятся *Vmi1* и *Shh*, играют важную роль в регуляции пролиферации и поддержании состояния покоя и СКК, и ЛСК [8, 39]. Было показано, что *Vmi1* участвует в поддержании пролиферативного потенциала ЛСК [6]. Еще один транскрипционный фактор *JunB* регулирует количество СКК, его повышенная экспрессия уменьшает количество длительно репопулирующих СКК, тогда как инактивация приводит к опухолевой трансформации [40]. На экспериментальной модели было показано, что ЛСК могут образовываться на стадии длительно репопулирующих СКК при инактивации этого транскрипционного фактора. Инактивация на модельной системе еще одного важного транскрипционного фактора *PU.1* приводит к развитию миелоидного лейкоза [41]. В то же время при ОМЛ мутации этого гена выявляются очень редко [42]. Возможно, для развития лейкоза достаточно хотя бы снижения уровня экспрессии *PU.1* [43]. Однако необходимо помнить, что для опухолевой прогрессии очень часто необходима вторая мутация, которая усиливает пролиферацию стволовой клетки и ингибирует ее дифференцировку. К таким конститутивно активирующим мутациям относятся нарушения в генах рецепторов ростовых факторов *FLT3* и *C-KIT*, генах *K-* и *N-RAS*, изменения в гене *STAT5A* [44].

Помимо описанных общих свойств ЛСК и СКК популяции этих клеток обладают очень важной для стволовых клеток способностью минимизировать все возможные внешние воздействия. ЛСК, подобно СКК, могут находиться в состоянии покоя [45], обладают высокой лекарственной устойчивостью за счет экспрессии АТФ-зависимых белков-транспортёров [46] и системой антиапоптотической защиты [47]. К сожалению, показано,

что обладание ЛСК всеми этими свойствами успешно позволяет им избегать действия интенсивной химиотерапии [3, 46]. ЛСК либо наследуют, либо приобретают за счет мутаций высокую лекарственную устойчивость. Поэтому ЛСК, к которым относятся инициирующие длительную культуру клетки и ОМЛ колониеобразующие единицы, активно пролиферируют [48, 49], тогда как сами ЛСК находятся вне клеточного цикла.

Для разработки специфических препаратов, элиминирующих ЛСК, но не СКК, пытались ингибировать в ЛСК лекарственную устойчивость. Некоторые агенты, эффективные для ингибирования АТФ-связанных транспортёров, были тщательно протестированы, но оказались мало пригодными для лечения больных [50, 51] в связи с аналогичным действием на здоровые СКК. Изучение специфических для ЛСК путей выживания выявило некоторые различия в механизмах активации апоптоза [52–54]. После того как было выяснено, что транскрипционный фактор NFκB конститутивно активирован в ЛСК, но не в СКК [55], ингибирующие его экспрессию лекарства, такие как идарубин, стали вводить в основные схемы лечения [52]. Недавно было обнаружено, что партенолид (потенциальный ингибитор NFκB) индуцирует апоптоз в ЛСК при ОМЛ и ХМЛ, не затрагивая нормальных СКК [53]. Конститутивная активация фосфатидилинозитид-3-киназы также необходима для жизнедеятельности ЛСК, и ее фармакологическое ингибирование с помощью LY294002 ведет к дозозависимому снижению выживаемости ЛСК [56]. Для эрадикации ЛСК можно, с одной стороны, рекрутировать их из фазы G0 в клеточный цикл и затем попытаться «убить» циклоспецифическими цитостатиками; с другой стороны, может быть более выгодно заставить эти клетки как можно дольше находиться в состоянии покоя, что продлит безрецидивное выживание пациентов. Наличие такой возможности подтверждается существованием клинически различных «вялотекущих» и «пролиферирующих» форм ОМЛ и, соответственно, различной продолжительностью ремиссии у больных.

Совсем недавно было показано, что ЛСК и СКК различаются по экспрессии гена *Pten*, супрессирующего рост опухолей [57]. Выключение *Pten* в гемопоэтических клетках взрослых животных приводит к развитию миело-пролиферативного заболевания в течение нескольких дней и перевиваемого лейкоза в течение нескольких недель. Одновременно утрата *Pten* стимулирует пролиферацию СКК. В такой экспериментальной модели СКК, в отличие от ЛСК, обладают способностью к самоподдержанию в отсутствие *Pten*. Этот эффект регулируется активностью mTOR-киназы, которая ингибируется рапамицином. Обработка рапамицином избирательно элиминирует ЛСК, но не затрагивает СКК. Более того, *Pten*-дефицитные СКК приобретают способность к длительному восстановлению кроветворения у летально облученных реципиентов. Механизм этого явления требует дальнейшего изучения. Возможно, утрата экспрессии *Pten* может индуцировать старение СКК. Например, показано, что делеция *Pten* в клетках простаты ведет к их TP53-зависимому старению [58]. Делеция гена, кодирующего циклинзависимый ингибитор киназ *p21^{Cip1}*, также стимулирует пролиферацию СКК с последующим медленным снижением их количества [59]. Так же как и *Pten*, *p21^{Cip1}* участвует в поддержании состояния покоя у СКК. Совокупность этих данных говорит о том, что СКК

и ЛСК возможно различать по уровню экспрессии генов, регулирующих состояние покоя. Сравнивая механизмы такой регуляции, можно найти новые схемы для лечения лейкозов и улучшить уже существующие.

Понимание механизмов опухолевой трансформации позволит найти успешные пути ее преодоления. Принято считать, что лейкоз возникает из одной клетки и поддерживается небольшой популяцией ЛСК [60–62]. Работы по ОМЛ показали, что только от 0,1 до 1% опухолевых клеток инициируют лейкоз у иммунодефицитных мышей [1, 2]. Было предложено 2 модели лейкозогенеза. Согласно стохастической модели, масса опухоли состоит из гомогенной популяции незрелых клеток, небольшая часть из которых способна к самоподдержанию или пролиферации, причем выбор происходит случайно [3, 63, 64]. Иерархическая модель подразумевает наличие гетерогенной опухолевой популяции, в которой очень небольшой процент клеток поддерживает заболевание. Для миелоидного лейкоза эти клетки уже коммитированы, но еще не утратили способности к самоподдержанию [10]. В связи с этим возникла гипотеза, что стволовые клетки, детерминированные к миелоидной дифференцировке, могут изменяться таким образом, что начинают использовать гены, уже не экспрессирующиеся на этой стадии дифференцировки, т.е. гены стволовых клеток [10]. Недавно появилась третья модель, согласно которой опухоль может возникать не в отделе СКК, а из коммитированных клеток, приобретающих свойства стволовых, т.е. способность к самоподдержанию [65–67].

Данные в пользу этой модели были получены в работе А.В. Кривцова и соавт. [68]. Авторы выделили ЛСК в популяции мышинных коммитированных гранулоцитарно-макрофагальных предшественников (ГМП) после трансдукции их геном сливного белка MLL-AF9. Этот белок начинает экспрессироваться у больных с транслокацией t(9;11)(p22;q23). Известно, что некоторые сливные белки, образующиеся после транслокаций в клетках человеческих лейкозов, определяют свойства ЛСК в коммитированных предшественниках [66, 69, 70]. Такой сливной белок MLL-AF9 был экспрессирован в высокоочищенных мышинных ГМП с фенотипом IL-7R-Lin-c-Kit+CD34+FcγRII/IIIhi. После введения трансдуцированных по MLL-AF9 ГМП сублетально облученным сингенным реципиентам у них развился олигоклональный ОМЛ. Авторы подсчитали частоту ЛСК с помощью метода лимитирующих разведений. Сублетально облученным мышам-реципиентам вводили от 20 до 10 000 клеток костного мозга от мышей, заболевших лейкозом. Все мыши, которым ввели больше 500 клеток, умерли от лейкоза. Половина мышей, получивших 100 клеток, и ни одна из получивших 20 клеток, не заболели ОМЛ. Таким образом, частота ЛСК составила 1 на 150 клеток костного мозга больных животных. Авторы сделали вывод, что MLL-AF9 индуцирует самоподдержание и лейкозную трансформацию в коммитированных ГМП. Чтобы охарактеризовать ЛСК при этом лейкозе, была выделена клеточная популяция IL-7R-Lin-Sca 1+c-Kit+CD34+FcγRII/III+ ГМП-подобных опухолевых предшественников. Эти клетки способны дифференцироваться в культуре с ростовыми факторами, однако и после индукции дифференцировки в популяции сохраняются ЛСК. После индукции дифференцировки необходимо не 150, а 5000 клеток для развития ОМЛ у мышей. Получен-

ные данные продемонстрировали, что иммунофенотип опухолевых клеток очень близок к таковому нормальных, что их популяция гораздо в большей степени обогащена ЛСК, чем популяция нормальных клеток здоровыми СКК, и что они могут дифференцироваться в клетки, не способные переносить болезнь. Для изучения профиля экспрессии генов в ЛСК были выделены 4 контрольные клеточные популяции из костного мозга нормальных сингенных мышей. Сравнивали популяцию СКК с фенотипом (IL7R-Lin-Sca1+c-kit+), общих миелоидных предшественников (IL-7R-Lin-Sca 1-c-Kit+CD34+FcγRII/IIIo), мегакариоцитарных эритроидных предшественников (IL-7R-Lin-Sca 1-c-Kit+CD34-FcγRII/III-) и ГМП (IL-7R-Lin-c-Kit+CD34+FcγRII/IIIhi) с популяцией, обогащенной ЛСК [68] из костного мозга мышей через 60 дней после трансплантации опухолевых клеток и с клиническими признаками лейкоза. РНК из этих клеточных популяций амплифицировали и гибридизовали с Affymetrix мышинными 430A 2,0 микрочипами. Первичный анализ показал, что программа генной экспрессии ЛСК очень стабильна и отличается от профиля экспрессии всех нормальных популяций предшественников, в наибольшей степени приближаясь к ГМП, из которых и произошли эти клетки. Была выделена группа генов, высоко экспрессированных в СКК, гораздо слабее – в коммитированных предшественниках и реактивированных (снова активированных) в ЛСК. Таких генов, отвечающих за самоподдержание, оказалось 363, однако в СКК выделяют еще 1137 генов, которые отличаются от экспрессированных в ЛСК. Анализ показал, что самоподдержание коммитированных предшественников ассоциировано с активацией части генов, экспрессированных на высоком уровне в нормальных СКК. К ним относятся факторы транскрипции и гены гомеобокса, экспрессирующиеся в раннем онтогенезе. Авторы провели сравнение экспрессии генов в человеческих клетках при ОМЛ, связанных с MLL-реаранжировкой и активированных в данном мышинном лейкозе. Оказалось, что 91 из 363 выявленных генов совпадают; это говорит о значимости полученных результатов. Необходимо провести дальнейшее исследование для установления того, являются ли эти гены универсальными для самоподдержания всех форм ОМЛ. В работе также был проведен поиск генов, экспрессированных в первую очередь в ЛСК. Эти гены совпали с генами, экспрессированными при MLL-реаранжировке. К ним относятся *HoxA5*, *HoxA9*, *HoxA10*, *Meis1*. Кроме того, были выявлены и новые, неизвестные ранее гены, участвующие в самоподдержании ЛСК при ОМЛ, такие как *Mef2c*, *Runx2* и ассоциированный с Wnt сигнальным путем ген *Ifi-2*. Выявление повышенной экспрессии ранних генов говорит об иерархии и запрограммированной последовательности работы генов, отвечающих за самоподдержание. При проверке способности выявленных генов влиять на самоподдержание нормальных ГМП оказалось, что *HoxA6*, *HoxA7*, *HoxA9* и *HoxA10*, но не *HoxA5*, стимулируют ГМП к серийному повторному клонированию. Ген *Mef2c* регулирует размер клона ГМП, но не участвует в их самоподдержании и, видимо, важен для увеличения количества опухолевых клеток. Полученные в работе данные доказывают возможность репрограммирования системы самоподдержания в опухолевых клетках, происходящих из коммитированных предшественников с ограниченным пролиферативным потенциалом.

Существует и четвертая гипотеза опухолевой трансформации при лейкозах, предложенная В.Г. Савченко. Согласно этой гипотезе, в организме существуют уже «претрансформированные» СКК, которые когда-то в онтогенезе вступают на путь пролиферации и дифференцировки. Если все СКК, заложенные в раннем онтогенезе, имеют высокий, но ограниченный пролиферативный потенциал и расходуются постепенно, обеспечивая смену кроветворных клонов в течение жизни, то когда-то наступает черед такой «претрансформированной» клетки. Скорее всего, должно произойти как минимум еще одно событие для образования настоящего опухолевого клона или возникновения

ЛСК. Такая гипотеза может быть проверена и априори не должна быть отвергнута.

На сегодняшний день понятно, что необходимо дальнейшее детальное изучение молекулярных и биологических характеристик клеток, которые инициируют и поддерживают лейкоз, и это очень важный этап поиска эффективной борьбы с этим заболеванием. Скорее всего, комплексное изучение «фенотипа», «статуса» и, главное, функционирования ЛСК позволит найти молекулярные агенты, способные ингибировать или специфически элиминировать эти клетки из организма больного и таким образом найти способы успешного лечения этой группы гематологических заболеваний.

Л и т е р а т у р а

- Lapidot T., Sirard C., Vormoor J. et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994;367:645—8.
- Bonnet D., Dick J.E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997;3:730—37.
- Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F. et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001;414:105—11.
- Pardal R., Clarke M.F., Morrison S.J. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:895—902.
- Park I.K., Qian D., Kiel M. et al. Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing haematopoietic stem cells. *Nature* 2003;423:302—5.
- Lessard J., Sauvageau G. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature* 2003;423:255—60.
- Molofsky A.V., Pardal R., Morrison S.J. Diverse mechanisms regulate stem cell self-renewal. *Curr Opin Cell Biol* 2004;16:700—7.
- Taipale J., Beachy P.A. The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer. *Nature* 2001;411:349—54.
- Purton L.E., Dworkin S., Olsen G.H. et al. RARgamma is critical for maintaining a balance between hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation. *J Exp Med* 2006;203:1283—93.
- Satoh C., Ogata K. Hypothesis: Myeloid-restricted hematopoietic stem cells with self-renewal capacity may be the transformation site in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2006;30:491—5.
- Reya T., Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005;434:843—50.
- Molofsky A.V., He S., Bydon M. et al. Bmi-1 promotes neural stem cell self-renewal and neural development but not mouse growth and survival by repressing the p16Ink4a and p19Arf senescence pathways. *Genes Dev* 2005;19:1432—7.
- Lowe S.W., Sherr C.J. Tumor suppression by Ink4a-Arf: progress and puzzles. *Curr Opin Genet Dev* 2003;13:77—83.
- Cortes J., O'Brien S., Kantarjian H. Discontinuation of imatinib therapy after achieving a molecular response. *Blood* 2004;104:2204—5.
- Blair A., Hogge D.E., Ailles L.E. et al. Lack of expression of Thy-1 (CD90) on acute myeloid leukemia cells with long-term proliferative ability in vitro and in vivo. *Blood* 1997;89:3104—12.
- Blair A., Sutherland H.J. Primitive acute myeloid leukemia cells with long-term proliferative ability in vitro and in vivo lack surface expression of c-kit (CD117). *Exp Hematol* 2000;28:660—71.
- Jordan C.T., Upchurch D., Szilvassy S.J. et al. The interleukin-3 receptor alpha chain is a unique marker for human acute myelogenous leukemia stem cells. *Leukemia* 2000;14:1777—84.
- Brendel C., Mohr B., Schimmelpfennig C. et al. Detection of cytogenetic aberrations both in CD90 (Thy-1)-positive and (Thy-1)-negative stem cell (CD34) subfractions of patients with acute and chronic myeloid leukemias. *Leukemia* 1999;13:1770—75.
- Reya T., Duncan A.W., Ailles L. et al. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature* 2003;423:409—14.
- Terpstra W., Prins A., Ploemacher R.E. et al. Long-term leukemia-initiating capacity of a CD34-subpopulation of acute myeloid leukemia. *Blood* 1996;87:2187—94.
- Zipori D. The nature of stem cells: state rather than entity. *Nat Rev Genet* 2004;5:873—8.
- Fortunel N.O., Otu H.H., Ng H.H. et al. Comment on "Stemness: transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells" and "a stem cell molecular signature". *Science* 2003;302:393.
- Civin C.I., Almeida-Porada G., Lee M.J. et al. Sustained, retransplantable, multilineage engraftment of highly purified adult human bone marrow stem cells in vivo. *Blood* 1996;88:4102—9.
- Krause D.S., Fackler M.J., Civin C.I. et al. CD34: structure, biology, and clinical utility. *Blood* 1996;87:1—13.
- Bhatia M., Bonnet D., Murdoch B. et al. A newly discovered class of human hematopoietic cells with SCID-repopulating activity. *Nat Med* 1998;4:1038—45.
- Zhu J., Emerson S.G. Hematopoietic cytokines, transcription factors and lineage commitment. *Oncogene* 2002;21:3295—313.
- Stein M.I., Zhu J., Emerson S.G. Molecular pathways regulating the self-renewal of hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* 2004;32:1129—36.
- Begley C.G., Green A.R. The SCL gene: from case report to critical hematopoietic regulator. *Blood* 1999;93:2760—70.
- Reynaud D., Ravet E., Titeux M. et al. SCL/TAL1 expression level regulates human hematopoietic stem cell self-renewal and engraftment. *Blood* 2005;106:2318—28.
- Lecuyer E., Hoang T. SCL: from the origin of hematopoiesis to stem cells and leukemia. *Exp Hematol* 2004;32:11—24.
- Licht J.D. AML1 and the AML1-ETO fusion protein in the pathogenesis of t(8;21) AML. *Oncogene* 2001;20:5660—79.
- Mulloy J.C., Cammenga J., MacKenzie K.L. et al. The AML1-ETO fusion protein promotes the expansion of human hematopoietic stem cells. *Blood* 2002;99:15—23.
- de Guzman C.G., Warren A.J., Zhang Z. et al. Hematopoietic stem cell expansion and distinct myeloid developmental abnormalities in a murine model of the AML1-ETO translocation. *Mol Cell Biol* 2002;22:5506—17.
- Zhu J., Giannola D.M., Zhang Y. et al. NF-Y cooperates with USF1/2 to induce the hematopoietic expression of HOXB4. *Blood* 2003;102:2420—7.
- Sauvageau G., Thorsteinsdottir U., Eaves C.J. et al. Overexpression of HOXB4 in hematopoietic cells causes the selective expansion of more primitive populations in vitro and in vivo. *Genes Dev* 1995;9:1753—65.
- Krosil J., Beslu N., Mayotte N. et al. The competitive nature of HOXB4-transduced HSC is limited by PBX1: the generation of ultra-competitive stem cells retaining full differentiation potential. *Immunity* 2003;18:561—71.
- Golub T.R., Slonim D.K., Tamayo P. et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999;286:531—7.
- Ellisen L.W., Bird J., West D.C. et al. TAN-1, the human homolog of the Drosophila notch gene, is broken by chromosomal translocations in T lymphoblastic neoplasms. *Cell* 1991;66:649—61.
- van der Lugt N.M., Alkema M., Berns A. et al. The Polycomb-group homolog Bmi-1 is a regulator of murine Hox gene expression. *Mech Dev* 1996;58:153—64.
- Passegue E., Wagner E.F., Weissman I.L. JunB deficiency leads to a myeloproliferative disorder arising from hematopoietic stem cells. *Cell* 2004;119:431—43.
- Metcalfe D., Dakic A., Mifsud S. et al. Inactivation of PU.1 in adult mice leads to the development of myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:1486—91.
- Mueller B.U., Pabst T., Osato M. et al. Heterozygous PU.1 mutations are associated with acute myeloid leukemia. *Blood* 2002;100:998—1007.
- Rosenbauer F., Koschmieder S., Steidl U. et al. Effect of transcription-factor con-

centrations on leukemic stem cells. *Blood* 2005;106:1519—24.

44. Moore M.A. Converging pathways in leukemogenesis and stem cell self-renewal. *Exp Hematol* 2005;33:719—37.

45. Guan Y., Gerhard B., Hogge D.E. Detection, isolation, and stimulation of quiescent primitive leukemic progenitor cells from patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2003;101:3142—9.

46. Dean M., Fojo T., Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer* 2005;5:275—84.

47. Konopleva M., Zhao S., Hu W. et al. The anti-apoptotic genes Bcl-X(L) and Bcl-2 are over-expressed and contribute to chemoresistance of non-proliferating leukaemic CD34+ cells. *Br J Haematol* 2002;118:521—34.

48. Guan Y., Hogge D.E. Proliferative status of primitive hematopoietic progenitors from patients with acute myelogenous leukemia (AML). *Leukemia* 2000;14:2135—41.

49. Ailles L.E., Humphries R.K., Thomas T.E. et al. Retroviral marking of acute myelogenous leukemia progenitors that initiate long-term culture and growth in immunodeficient mice. *Exp Hematol* 1999;27:1609—20.

50. List A.F., Kopecny K.J., Willman C.L. et al. Benefit of cyclosporine modulation of drug resistance in patients with poor-risk acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study. *Blood* 2001;98:3212—20.

51. Baer M.R., George S.L., Dodge R.K. et al. Phase 3 study of the multidrug resistance modulator PSC-833 in previously untreated patients 60 years of age and older with acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 9720. *Blood* 2002;100:1224—32.

52. Guzman M.L., Swiderski C.F., Howard D.S. et al. Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:16220—5.

53. Guzman M.L., Rossi R.M., Karnischky L. et al. The sesquiterpene lactone parthenolide induces apoptosis of human acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells. *Blood* 2005;105:4163—9.

54. Guzman M.L., Upchurch D., Grimes B. et al. Expression of tumor-suppressor genes interferon regulatory factor 1 and death-associated protein kinase in primitive acute myelogenous leukemia cells. *Blood* 2001;97:2177—9.

55. Guzman M.L., Neering S.J., Upchurch D. et al. Nuclear factor-kappaB is constitutively activated in primitive human acute myelogenous leukemia cells. *Blood* 2001;98:2301—7.

56. Xu Q., Simpson S.E., Scialla T.J. et al. Survival of acute myeloid leukemia cells requires PI3 kinase activation. *Blood* 2003;102:972—80.

57. Yilmaz O.H., Valdez R., Theisen B.K. et al. Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature* 2006;441:475—82.

58. Chen Z., Trotman L.C., Shaffer D. et al. Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature* 2005;436:725—30.

59. Cheng T., Rodrigues N., Shen H. et al. Hematopoietic stem cell quiescence maintained by p21cip1/waf1. *Science* 2000;287:1804—8.

60. Hope K.J., Jin L., Dick J.E. Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nat Immunol* 2004;5:738—43.

61. McCulloch E.A., Howatson A.F., Buick R.N. et al. Acute myeloblastic leukemia considered as a clonal hemopathy. *Blood Cells* 1979;5:261—82.

62. Fialkow P.J., Singer J.W., Raskind W.H.

et al. Clonal development, stem-cell differentiation, and clinical remissions in acute nonlymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 1987;317:468—73.

63. Till J.E., McCulloch E.A., Siminovich L. A Stochastic Model of Stem Cell Proliferation, Based on the Growth of Spleen Colony-Forming Cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1964;51:29—36.

64. Korn A.P., Henkelman R.M., Ottensmeyer F.P. et al. Investigations of a stochastic model of haemopoiesis. *Exp Hematol* 1973;1:362—75.

65. Jamieson C.H., Ailles L.E., Dylla S.J. et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med* 2004;351:657—67.

66. Cozzio A., Passegue E., Ayton P.M. et al. Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors. *Genes Dev* 2003;17:3029—35.

67. Passegue E., Jamieson C.H., Ailles L.E. et al. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100 (Suppl 1):11842—9.

68. Krivtsov A.V., Twomey D., Feng Z. et al. Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9. *Nature* 2006;442:818—22.

69. Huntly B.J., Shigematsu H., Deguchi K. et al. MOZ-TIF2, but not BCR-ABL, confers properties of leukemic stem cells to committed murine hematopoietic progenitors. *Cancer Cell* 2004;6:587—96.

70. So C.W., Karsunky H., Passegue E. et al. MLL-GAS7 transforms multipotent hematopoietic progenitors and induces mixed lineage leukemias in mice. *Cancer Cell* 2003;3:161—71.

МАРКЕРЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПРИ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗАХ

О.Д. Захаров, Е.Ю. Рыбалкина, М.А. Волкова, А.А. Ставровская

ГУ РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

MULTIDRUG RESISTANCE MARKERS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIAS

O.D. Zakharov, Ye. Yu. Rybalkina, M.A. Volkova, A.A. Stavrovskaya

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Multidrug resistance (MDR) is the cell resistance to a number of drugs. Proteins from the ABC-transporter family are the most studied factors of the MDR phenomenon. According to the literature Pgp, MRP1, BCRP, and LRP are proteins involved in the development of the MDR. The authors detected the expression of these proteins in untreated patients with acute myeloid leukemia (other than M3). Expression of these proteins was observed in 64.3%, 46.4%, 64.3%, and 42.9% of patients, respectively. In all non-responders blast cells expressed more than one marker of MDR. Expression of 3 and 4 markers was found in 80% of non-responders while in responders 1—2 markers were expressed in 83%.

Key words: acute myeloid leukemia, MDR, Pgp, MRP1, BCRP, LRP

3а последние годы достигнут несомненный прогресс в изучении острых миелоидных лейкозов (ОМЛ). Благодаря исследованиям патологов, клиницистов, генетиков раскрыты некоторые механизмы патогенеза, определены факторы прогноза. Все это привело к

тому, что заболевание, бывшее фатальным для 100% больных, в настоящее время расценивается как потенциально излечиваемое. При использовании современных схем ПХТ 5-летняя безрецидивная выживаемость составляет 45—50%, проведение аллогенной трансплантации гемо-