

Rola nowotworowych komórek macierzystych w patogenezie i terapii chorób nowotworowych

The role of cancer stem cells in pathogenesis and therapy of cancer

STRESZCZENIE

Mimo wielu lat poszukiwania skutecznych terapii, nowotwory stanowią wciąż jedną z najczęstszych przyczyn zgonów. Kluczem do rozwiązania tego problemu wydaje się być stworzenie protokołów leczenia zaprojektowanego dla każdego pacjenta indywidualnie, lecz do tego potrzebna jest kompleksowa wiedza na temat genezy i progresji nowotworów. Przełomem dla postępu naszej wiedzy o patogenezie rozwoju nowotworów było prawdopodobnie odkrycie nowotworowych komórek macierzystych (CSCs), które stały się podstawą do sformułowania nowych teorii opisujących rozwój chorób nowotworowych biorących pod uwagę złożoność całej kancerogenezy oraz zróżnicowanie stopnia wrażliwości komórek nowotworowych na różne metody terapii. W czasie rozwoju choroby nowotworowej prawdopodobnie dochodzi do współwystępowania jednocześnie zjawisk opisywanych przez dwie dominujące teorie: w wyniku klonalnej ekspansji dochodzi do selekcji CSCs, które następnie są źródłem całej hierarchii heterogennych komórek nowotworowych. Nowotworowe komórki macierzyste posiadają cechy typowe dla prawidłowych komórek macierzystych. Prawdopodobnie powstają one z tkankowych komórek macierzystych, jednak brakuje na to jednoznacznych dowodów. Analiza właściwości tych komórek pozwoliła zrozumieć, dlaczego stosowane metody leczenia zawodziły w tak wielu przypadkach, nie niszczyły one bowiem tej populacji komórek. Odkrycie CSCs pozwoliło skoncentrować się na poszukiwaniach nowych metod leczenia skierowanych na pokonanie niewrażliwości CSCs na stosowane dotąd czynniki terapeutyczne.

Forum Medycyny Rodzinnej 2011, tom 5, nr 1, 47–56

słowa kluczowe: nowotworowe komórki macierzyste, terapia

Magdalena Szaryńska,
Zbigniew Kmiec

Katedra i Zakład Histologii,
Gdański Uniwersytet Medyczny

Adres do korespondencji:
dr n. med. Magdalena Szaryńska
Katedra i Zakład Histologii GUMed
ul. Dębinki 1, 80–210 Gdańsk
tel.: (58) 349–14–37, faks: (58) 349–14–19
e-mail: mszarynska@gumed.edu.pl

Copyright © 2011 Via Medica
ISSN 1897–3590

ABSTRACT

Despite many years of investigations, cancer still belongs to one of the most common causes of patients' death. The implementation of individual treatment protocols seems to be the best way of successful therapy. However, the deepening of our knowledge about the mechanisms of cancer genesis and progression is necessary to reach that goal. The discovery of cancer stem cells (CSCs) was a milestone in the understanding of the resistance of tumor cells to various therapies. It was established that CSCs have features very similar to tissue stem cells. Although, CSCs seem to originate from tissue stem cells, the clear evidence is still lacking, because the studies of different cancers gave heterogeneous results. The discovery of CSCs laid the basis for the new theories of cancerogenesis, which explain differentiated sensitivity to therapy of cancer cells and why the standard treatment methods failed in so many cases. These new theories suggest that the selective clonal expansion of CSCs led to obtain clones, which can give rise to all types of the heterogeneous differentiated cancer cells. Standard therapies act mainly on partially-differentiated, matured or proliferating cancer cells, but not on CSCs, which are in fact responsible for cancer genesis, progression and metastases. Therefore, recent target of cancer research is directed to the development of new therapeutics to overcome the insensitivity of CSCs to chemotherapeutics, and, consequentially, to inhibit progression of the disease.

Forum Medycyny Rodzinnej 2011, vol. 5, no 1, 47–56

key words: cancer stem cells, therapy

CO TO SĄ KOMÓRKI MACIERZyste?

Aby komórkę można było nazwać komórką macierzystą, powinna ona po pierwsze, być zdolna do samoodnawiania i po drugie, mieć potencjał różnicowania w przynajmniej jeden rodzaj spośród około 200 typów wyspecjalizowanych komórek ciała [1]. Na podstawie potencjału różnicowania można wyróżnić kilka typów komórek macierzystych. W wyniku pierwszych podziałów zygoty powstają blastomery, które są **komórkami totipotencjalnymi**. Również zapłodniona komórka jajowa, zygota, jest totipotencjalną komórką macierzystą. Komórki o takim potencjale mogą dać początek wszystkim wyspecjalizowanym komórkom całego organizmu oraz błonom płodowym i łożysku — wszystkim typom komórek niezbędnym w czasie prawidłowej embriogenezy. Następne podziały wczesnej blastuli sprawiają,

że jej komórki tracą totipotencjalność, co sprawia, że w dalszych etapach ontogenezy w organizmie występują komórki macierzyste o znacznie mniejszym potencjale różnicowania. **Komórki pluripotencjalne** mogą się różnicować do wielu, ale nie do wszystkich rodzajów typów komórek ciała powstających ze wszystkich trzech listków zarodkowych (ektodermy, endodermy, mezodermy). Taki potencjał pluripotencjalności przypisuje się komórkom macierzystym embrionalnym (komórkom węzła zarodkowego). Multipotencjalność jest cechą komórek macierzystych zasiedlających większość tkanek i narządów organizmu. **Komórki multipotencjalne** mają zdolność do różnicowania się w linie komórek specyficznych dla danej niszy, czyli środowiska tkankowego lub narządowego. Na przykład, krwiotwórcze komórki macierzyste mogą dać początek wszystkim

komórkom hematopoezy, zaś nerwowe komórki macierzyste mogą się różnicować w neurony, astrocyty oraz oligodendrocyty. Najmniejszy potencjał posiadają **komórki unipotencjalne**, które mają zdolność różnicowania się w tylko jedną linię, na przykład spermatogonia [1, 2].

Sądzi się, że komórki macierzyste występują w większości tkanek ciała dorosłego człowieka, jako tak zwane **tkankowe (soma-tyczne) komórki macierzyste**. W większości tkanek tworzą one bardzo małą populację, najczęściej stanowiąc tylko 1–2% wszystkich komórek, lecz ich obecność wydaje się niezbędna w czasie całego życia pozapłodowego. Komórki macierzyste osób dorosłych (*adult stem cells*), poprzez asymetryczne podziały tworzą odpowiednią liczbę komórek zróżnicowanych, które uzupełniają pulę komórek wyspecjalizowanych. Druga z komórek potomnych, powstających wskutek podziału asymetrycznego, pozostaje niezróżnicowaną komórką macierzystą o identycznych właściwościach jak ta, z której powstała. Asymetryczny podział komórek macierzystych służy więc zarówno do odnowienia ich puli, jak i do zapoczątkowania drogi różnicowania do określonego typu komórek. W warunkach prawidłowych komórki macierzyste dzielą się rzadko. W szpiku kostnym zaledwie 10% komórek macierzystych jednocześnie znajduje się w fazach S/G2/M (fazie replikacji, przedpodziałowej lub mitozy), co świadczy o tym, że mimo nieograniczonej aktywności proliferacyjnej, komórki macierzyste stosunkowo rzadko ulegają podziałom. Niewielka aktywność proliferacyjna pełni funkcję mechanizmu chroniącego komórki przed wyczerpaniem się ich puli i przed mutacjami, jakie często pojawiają się w czasie replikacji [2].

CO TO SĄ NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZYTE?

Już w 1858 roku Rudolf Virchow zaproponował teorię o embrionalnym pochodzeniu

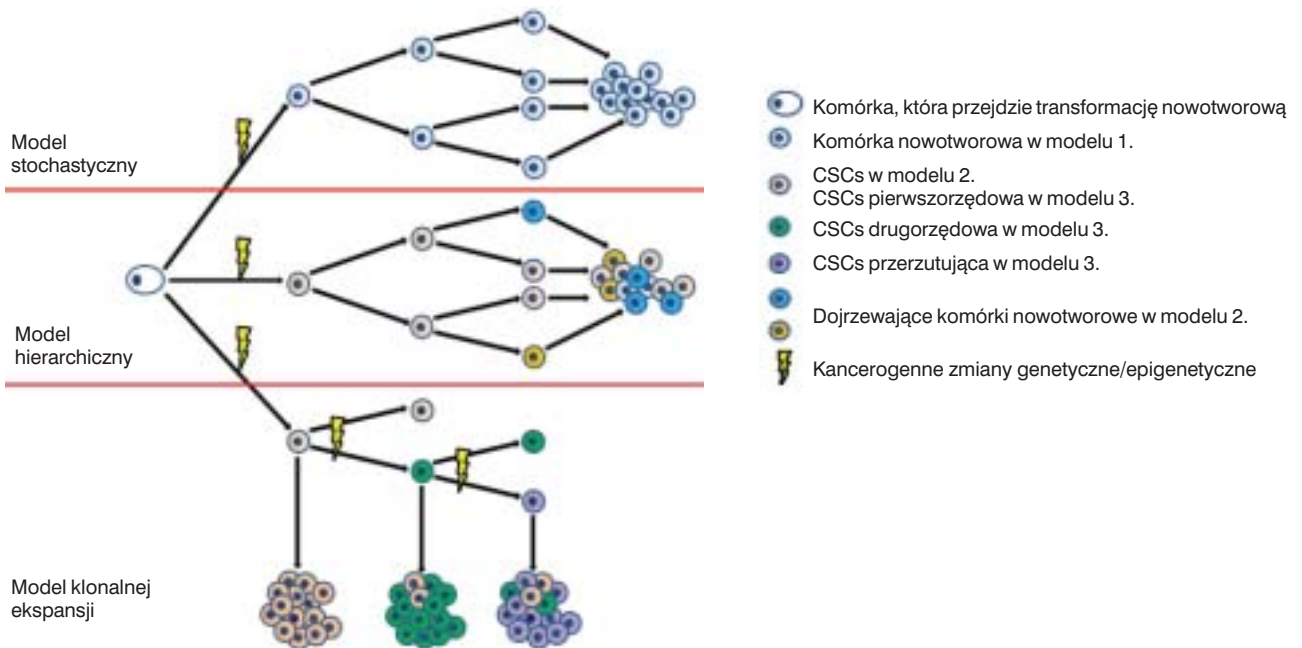
komórek nowotworowych. W późniejszych badaniach wykazano związek indukcji powstawania nowotworów z obecnością niezróżnicowanych komórek. Dla wielu typów nowotworów wykazano, że rozwijają się one z komórek o cechach przypominających komórki macierzyste pluripotencjalne, o właściwościach podobnych do cech embrionalnych komórek macierzystych [3–5]. W literaturze komórki te nazywa się **nowotworowymi komórkami macierzystymi**, a w terminologii angielskojęzycznej *cancer stem cells* (CSCs) lub *tumor initiating cells* (TICs) [6–8].

Pojawienie się pierwszej komórki nowotworowej tłumaczy teoria somatycznych mutacji (*the somatic mutation theory*), która mówi, że w ciągu swojego życia komórka akumuluje mutacje i staje się komórką nowotworową, gdy osiągnie zdolność do niekontrolowanych podziałów. Pewna pula mutacji (a nie tylko jedna mutacja) powoduje pojawienie się w komórkach zmian fenotypowych i funkcjonalnych, które są odpowiedzialne za indukcję pluripotencjalnego potencjału typowego dla komórek macierzystych [9].

Wymienia się obecnie trzy teorie opisujące przebieg procesu kancerogenezy, z których pierwsza — **teoria stochastyczna** — ma już raczej tylko charakter historyczny. Mówi ona, że wszystkie komórki nowotworowe są takie same (homogenność), mają identyczny potencjał rozwojowy i wszystkie są zdolne do indukowania progresji choroby (ryc. 1). W wielu doświadczeniach przeprowadzonych *in vitro* oraz *in vivo* zaobserwowano jednak, że komórki nowotworowe charakteryzuje duża heterogenność pod względem morfologii, fenotypu, zdolności proliferacyjnych, potencjału różnicowania oraz odporności na zastosowaną terapię [7]. Na podstawie tych danych zaproponowano inne teorie tłumaczące rozwój chorób nowotworowych i towarzyszących im zjawisk, które jednocześnie uwzględniają występowanie CSCs. Pierwsza z koncepcji mówi o hierar-



Dla wielu typów nowotworów wykazano, że rozwijają się one z komórek o cechach przypominających komórki macierzyste pluripotencjalne



Rycina 1. Porównanie trzech koncepcji rozwoju choroby nowotworowej

chicznym układzie komórek, a druga podkreśla rolę klonalnej ekspansji CSCs o najkorzystniejszych cechach dla wzrostu i rozwoju nowotworu (ryc. 1) [4].

Według teorii hierarchicznej tylko niewielka populacja komórek nowotworowych posiada potencjał formowania guza i tylko te komórki odpowiadają za rozwój i progresję nowotworu, za tworzenie fenokopii guza zarówno po przetrutowaniu, jak i w czasie ksenotransplantacji ludzkich komórek nowotworowych do zwierząt laboratoryjnych. Nowotworowe komórki macierzyste potrafią tworzyć wszystkie rodzaje zróżnicowanych komórek, jakie można znaleźć w danym typie nowotworu. Istnieje hierarchia zróżnicowania tych komórek, podobna do tej, jaką obserwuje się w przypadku rozwoju komórek macierzystych w ich fizjologicznych niszach: komórki macierzyste — progenitorowe — dojrzałe. Ponieważ same CSCs bardzo rzadko ulegają podziałom, co prawdopodobnie sprzyja ochronie DNA przed nowymi mutacjami, za niezwykłą zdolność nowotworu do tworzenia dużej liczby

komórek potomnych odpowiadają komórki aktywnie proliferujące [7].

Inna koncepcja zakłada, że dany nowotwór rozwija się dzięki klonalnej ekspansji jednej z komórek, która nabyła najkorzystniejsze zmiany onkogenne i która poprzez aktywną proliferację zdominowała inne typy CSCs w danej niszy (pierwszorzędowa/pierwotna CSC — *primary* CSC), a jej klonalne potomstwo zdominowało wszystkie komórki nowotworowe. Ten stan trwa do czasu, gdy jedna z potomnych komórek nabędzie jakąś nową mutację, która da jej przewagę nad innymi komórkami i wówczas ona, poprzez klonalną ekspansję, przerośnie nowotwór (drugorzędowa/wtórna CSC — *secondary* CSC). W wyniku którejś kolejnej takiej zmiany, CSCs mogą się stać zdolne do opuszczenia swojej dotychczasowej niszy i tworzenia przerzutów (przerzutująca CSC — *metastatic* CSC). Teoretycznie, w każdej odrębnej niszy, takie klonalne ekspansje mogą zachodzić niezależnie od siebie [10]. Dowodem na to mogą być zmiany fenotypu komórek CSCs raka jelita grubego, które po

nabyciu zdolności do inwazji i tworzenia przerzutów zmieniły swój fenotyp z CD133^{high} na CD133^{low} [6]. Takim czynnikiem selekcyjnym może być również zjawisko oporności na stosowaną radio- czy chemioterapię. Przeżywają tylko te komórki, które zaadaptowały się do nowych warunków otoczenia poprzez wykształcenie mechanizmów ochronnych. Należy zaznaczyć, że prawdopodobnie w czasie rozwoju choroby nowotworowej mamy do czynienia ze współistnieniem zjawisk opisywanych przez obie teorie. W wyniku klonalnej ekspansji dochodzi do selekcji CSCs, które następnie są źródłem całej hierarchii heterogennych komórek nowotworowych [10].

ZNACZENIE NISZY DLA ROZWOJU CSCs

Nisza jest to specyficzne mikrośrodowisko, w którym są zlokalizowane komórki danego typu. W jej skład wchodzi komórki, składniki macierzy pozakomórkowej oraz czynniki rozpuszczalne, takie jak cytokiny lub czynniki wzrostu, które mogą być również wydzielane na drodze auto- czy parakrynej przez komórki danej niszy. Warunki, jakie panują w obrębie niszy, regulują podziały, różnicowanie, angiogenezę oraz tworzenie przerzutów przez CSCs. Komórki te odpowiadają na sygnały generowane przez wszystkie elementy danego mikrośrodowiska i dodatkowo są w stanie je modyfikować, tworząc środowisko optymalne dla swego rozwoju. Warunki mikrośrodowiska mają ogromne znaczenie dla utrzymania odpowiedniej puli CSCs w stanie niezróżnicowanym, podobnie jak to jest w przypadku somatycznych komórek macierzystych w niszach tkankowych. Oprócz tego, jak pokazały wyniki badań, zmiany w obrębie niszy mogą indukować proces nowotworzenia lub wręcz przeciwnie — hamować go, nawet w przypadku nagromadzenia się zmian preonkogennych [8]. Nisza może kontrolować procesy nowotworzenia między innymi poprzez kontrolę ekspresji genów (mechanizmy epigenetyczne). W warunkach doświad-

czalnych zademonstrowano, że jeżeli somatyczne komórki macierzyste wyizoluje się, to poza swoją fizjologiczną niszą tracą one swoje normalne funkcje i nabywają właściwości kancerogennych. Wykazano, że w wyniku istnienia przewlekłego stanu zapalnego zmiana może ulec mikrośrodowisko, co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju nowotworu [9], jak to ma miejsce na przykład w przypadku raka jelita grubego w przebiegu nieswoistych zapaleń jelita grubego [11].

Ogromne znaczenia dla funkcjonowania CSCs w danej niszy ma stan hipoksji (niedotlenienia), jaki tam panuje i jaki jest aktywnie wywołany i utrzymywany przez komórki nowotworowe [3]. W warunkach fizjologicznych jedynie komórki macierzyste, spośród wszystkich prawidłowych komórek ciała, potrzebują do swojego prawidłowego funkcjonowania warunków niedotlenienia [12, 13], co stanowi kolejne podobieństwo CSCs do tkankowych komórek macierzystych. Hipoksja wywołuje wiele procesów, które są indukowane dzięki aktywacji czynnika transkrypcyjnego HIF (*hypoxia inducible factor*). W badaniach doświadczalnych wykazano, że CSCs dzięki czynnikowi HIF zwiększają progresję choroby. Czynnikiem ten reguluje ekspresję genów wielu białek kluczowych dla funkcjonowania komórek, dzięki którym sprawnie one reagują i odpowiadają na zmiany stężenia parcjalnego tlenu w otoczeniu [14]. Między innymi HIF odpowiada za aktywację genów związanych z przełączeniem metabolizmu na beztlenowy, bardziej wydajny transport glukozy do wnętrza komórek oraz indukcję angiogenezy.

Większość komórek może w stanie prawidłowym funkcjonować tylko w obrębie swojej niszy, podczas gdy CSCs i ich komórki potomne są w stanie kreować dogodne dla swojego rozwoju warunki mikrośrodowiska i potrafią przetrwać w innych, nietypowych dla siebie miejscach organizmu, w tak zwanych **niszach przedprzerzutowych** (*premetastatic niche*). Tam adaptują się do istnieją-

”
**Stosowane obecnie
środki terapeutyczne
zawodzą w wielu
przypadkach różnych
rodzajów nowotworów,
ponieważ nie działają na
CSCs**

cych warunków, by następnie dostosować je do swoich potrzeb, co jest niezbędne dla rozwoju nowego guza w miejscu, dokąd przedostały się w trakcie tworzenie przerzutów. Dodatkowo, istotną rolę w obrębie niszy nowotworowych odgrywa swoiste mikrośrodowisko immunologiczne w obrębie guza, które cechuje immunosupresja, czyli wyciszenie aktywności komórek układu odpornościowego [15].

POCHODZENIE I WŁAŚCIWOŚCI CSCs

Uważa się, że CSCs mogą się rozwijać z prawidłowych komórek macierzystych lub powstających z nich częściowo zróżnicowanych komórek (progenitorowych) obecnych w danej niszy lub też mogą pochodzić od w pełni zróżnicowanych komórek somatycznych [9, 16–18]. Kwestii tej nie można rozstrzygnąć w sposób jednoznaczny dla większości znanych typów nowotworów. Prawidłowe tkankowe komórki macierzyste mają długi czas życia, więc może w nich dojść do nagromadzenia wystarczającej liczby mutacji, by przejść transformację nowotworową. Posiadają one zdolność do podziałów i potencjał do różnicowania się, więc łatwiej im osiągnąć „nieśmiertelność” (czyli zdolność do niekontrolowanych podziałów) i wymknąć się spod kontroli białek regulujących cykl komórkowy. Na przykład, w eksperymentalnych modelach nowotworów skóry stwierdzono, że CSCs pochodzą od tkankowych komórek macierzystych [19]. Dla niektórych białaczek wykazano, że CSCs wywodzą się z wczesnych prekursorów, które zachowały markery własnej linii rozwojowej i jednocześnie reaktywowały aktywność genów związanych z samoodnawianiem się, co stanowi typową cechę komórek macierzystych [20]. Zaskakujące było odkrycie u myszy, że nowotwór żołądka może pochodzić od komórki progenitorowej, która przywędrowała tam ze szpiku kostnego. Komórki szpikowe, które były rekrutowane do miejsc infekcji bakteriami *Helicobacter pylori*, mo-

gły w błonie śluzowej żołądka przejść transformację nowotworową i dać początek rakowi żołądka [21]. Dodatkowo, na podstawie obserwacji podobieństw kancerogenezy do prawidłowej ontogenezy jelita grubego, zasugerowano, że rak jelita grubego może się wywodzić od komórek macierzystych osiadłych w nabłonku w czasie życia płodowego [16, 22].

Zestawienie cech nowotworowych komórek macierzystych, wspólnych z właściwościami prawidłowych komórek macierzystych oraz cech swoistych CSCs, przedstawiono w tabeli 1.

ZASTOSOWANIA KLINICZNE WIEDZY O CSCs

Stosowane obecnie środki terapeutyczne zawodzą w wielu przypadkach różnych rodzajów nowotworów, ponieważ nie działają na CSCs. Terapia jest stosunkowo skuteczna wobec proliferujących lub zróżnicowanych komórek guza, natomiast z reguły jest nieefektywna wobec komórek odpowiedzialnych za rozwój i progresję nowotworu. Zaobserwowano, że stosowanie niektórych terapeutyków (np. Letrozole, Docetaxel) w leczeniu raka piersi powoduje selekcję komórek i znaczny wzrost względnego udziału CSCs wśród komórek guza. Oznacza to, że CSCs charakteryzują się rzeczywiście większą odpornością na działanie chemioterapeutyków [25]. Dodatkowo, zaobserwowano, że CSCs potrafią przeprowadzać fuzje z komórkami somatycznymi danej niszy. Takie tak zwane chimeryczne komórki są bardziej agresywne i bardziej odporne na terapię [26].

Problem w opracowaniu strategii walki z CSCs polega na tym, że ich identyfikacja oparta jest głównie na markerach fenotypowych (obecności pewnych białek powierzchniowych), które dla każdego typu nowotworu mogą być różne. Nie jest znany jeden uniwersalny marker CSCs. Dodatkowo, charakterystyka tych komórek i ich podatności na

Tabela 1

Właściwości CSCs wspólne i różniące je od prawidłowych komórek macierzystych

Wspólne z prawidłowymi komórkami macierzystymi

1. Zdolność do samoodnowy (symetryczne lub asymetryczne podziały komórkowe)
2. Zdolność do różnicowania się we wszystkie typy komórek danej tkanki/danego typu nowotworu
3. Niska aktywność proliferacyjna, co zapobiega powstawaniu nowych mutacji w trakcie replikacji DNA
4. Odporność na działanie czynników uszkodzających DNA (wolne rodniki, toksyny, promieniowanie UV)
5. Niski odsetek spośród wszystkich komórek tkanki nowotworowej (w obrębie danej niszy) (np. dla raka prostaty ta proporcja wynosi 0,1%)
6. Swoisty fenotyp — zestaw markerów powierzchniowych, np. obecność białek CD24, CD44, CD133, które występują na wszystkich CSCs, w różnej proporcji w zależności od typu nowotworu
7. Zmiany molekularne:
 - Wzrost stężenia jądrowej β -kateniny — między innymi poprzez zahamowanie ekspresji E-kadheryny (białko błonowe, do którego jest przyłączona β -katenina w prawidłowych warunkach) lub poprzez dezaktywację białka APC odpowiedzialnego za degradację β -kateniny
 - Demetylacja histonu H3 — umożliwia rozluźnienie struktury chromatyny
 - Ekspresja genów typowych dla komórek macierzystych: Oct4, Notch, Aldh1, Sox1
 - Indukcja mechanizmów wydłużania telomerów na końcach chromosomów poprzez aktywację telomerazy lub innych alternatywnych mechanizmów wydłużania telomerów, co zapobiega replikacyjnemu starzeniu się komórek

Swoiste cechy CSCs

1. Zdolność do samoodtworzenia, czyli do odtwarzania guza w mechanizmach przerzutowania lub w doświadczalnych modelach ksenotransplantacji
2. Odporność na leki (chemioterapeutyki), wolne rodniki i radioterapię (czyli na czynniki indukujące powstawanie nowych mutacji) poprzez:
 - nadprodukcję transporterów ABC (odpowiedzialnych za zjawisko oporności wielolekowej)
 - wydajne mechanizmy wykrywania i naprawy uszkodzeń DNA
 - indukcję stanu niedotlenienia
3. Lokalizacja w warstwie rozrodczej na obrzeżach guza
4. Zdolność do migracji z obrębu guza do innych tkanek — tworzenie przerzutów
5. Zdolność do ucieczki spod aktywności układu odpornościowego m.in. poprzez:
 - Tak zwane przeciwuderzenie (*counterattack*), czyli syntezę i/lub wydzielanie cząsteczek typowych dla efektorowych limfocytów, które indukują apoptozę w komórkach odpornościowych, np. FasL, TRAIL
 - Wydzielanie chemoatraktantów dla niedojrzałych komórek dendrytycznych. Komórki te osiedlają się wewnątrz guza, pozostają w stanie nieaktywnym i wspierają immunosupresyjne funkcje CSCs
6. Odporność na sygnały indukujące apoptozę (czyli programowaną, kontrolowaną śmierć komórki) — m.in. poprzez:
 - autokrynną produkcję IL-4
 - nadekspresję surwiwiny i innych białek antyapoptotycznych

Opracowano na podstawie danych zawartych w cytowanych publikacjach [1, 5–7, 9, 23, 24].

różne rodzaje terapii zależy od modelu, na którym są przeprowadzane badania. Kluczowy tutaj wydaje się być dobór odpowiedniego szczepu zwierząt doświadczalnych (głównie są to myszy) i stopień niedoboru ich układu odpornościowego. Im bardziej upośledzone funkcje immunologiczne, tym wyższa proporcja komórek o fenotypie CSCs

jest wykrywana w guzie powstałym w wyniku przeszczepiania takiemu zwierzęciu badanego nowotworu człowieka (ksenotransplantacja) [27, 28]. Należy również pamiętać, że nowotwór u człowieka może się rozwijać przez wiele lat i zanim zostanie wykryty, często ma już znaczące rozmiary. W stosowanych modelach zwierzęcych nowotwo-

**”
Dla CSCs raka piersi
wykazano, że mają one
mniejszą skłonność do
wytwarzania połączeń
międzykomórkowych i są
bardziej skłonne do
odłączania się od
agregatów komórek
nowotworowych niż
komórki zróżnicowane**

ry rozwijają się od kilku do kilkudziesięciu tygodni, więc nie są w stanie wywołać takich długofalowych skutków. Dodatkowo, należy wziąć pod uwagę krótszy czas życia zwierząt doświadczalnych. Te obserwacje dowodzą, jak trudno jest stworzyć dobry model badawczy, który oddawałby złożoność wszystkich elementów ważnych dla skutecznej terapii antynowotworowej i który by w pełni naśladował jak największą liczbę zjawisk wywołujących nowotwór i/lub wywołanych przez niego. Przykładem problemów metodycznych badań doświadczalnych komórek nowotworowych jest fakt, że wciąż pewne grupy badaczy testują terapeutyki na komórkach hodowanych w postaci jednej warstwy (hodowle dwuwymiarowe, tj. 2D), podczas gdy wiadomo, że hodowle przeprowadzone w postaci przestrzennych trójwymiarowych struktur (3D) znacznie lepiej zachowują warunki niszy fizjologicznej. Jednocześnie testowanie leków w warunkach 3D pozwala na uzyskanie bardziej wiarygodnych wyników, ponieważ brane są pod uwagę również interakcje między komórkami nowotworowymi w obrębie struktur trójwymiarowych (sfer) za pośrednictwem powierzchniowych białek adhezyjnych (integrzyn i kadheryn). Wykazano, że powstawanie wiązań między komórkami nowotworowymi w obrębie struktur 3D jest odpowiedzialne za wytworzenie tak zwanej wielokomórkowej oporności na terapię (MCR, *multicellular resistance*), która wynika z ograniczonej penetracji terapeutyków do wnętrza sferycznych struktur *in vitro* czy do wnętrza guza *in vivo*. Prowadzone są próby zwiększenia wydajności terapii dzięki zastosowaniu środków niszczących strukturę trójwymiarową guzów nowotworowych. Zademonstrowano, że nadekspresja semaforyny 3F (naturalnego białka biorącego udział w przekazywaniu sygnału wewnątrz komórki) powoduje obniżenie ekspresji integryny $\alpha\beta3$ i przywraca wrażliwość na leki komórki linii raka jelita grubego HT29 [29]. Inny

zespół zaobserwował podobne zjawisko dla tej samej linii komórek (przywrócenie wrażliwości na 5-fluorouracyl) po wyciszeniu aktywności kinazy FAK sprzężonej z integrzynami przy użyciu zjawiska interferencji RNA [30]. Jednocześnie dla CSCs raka piersi wykazano, że mają one mniejszą skłonność do wytwarzania połączeń międzykomórkowych i są bardziej skłonne do odłączania się od agregatów komórek nowotworowych niż komórki zróżnicowane [31]. Komórki macierzyste białaczek prawdopodobnie są odporne na chemioterapię w skutek ich przyłączania się do komórek zrębu lub elementów macierzy pozakomórkowej szpiku kostnego. Zastosowanie liganda dla $\beta1$ integryny osłabia te wiązania i przywraca wrażliwość tych komórek na chemioterapię [32, 33].

Inną potencjalną strategią walki z CSCs jest indukcja ich podziałów i dojrzewania, aby stały się podatne na działanie standardowych chemioterapeutyków czy radioterapii. W przypadku nowotworów krwi można stosować kwas retinowy, który stymuluje dojrzewanie CSCs i poprzez to poprawia znacznie skuteczność terapii [34]. Zaproponowano stosowanie środków skracających przerwy w czasie trwania cyklu komórkowego, co zmniejsza czas działania wewnątrzkomórkowych mechanizmów naprawy DNA i tym samym zwiększa wrażliwość komórek na radioterapię [35]. Kolejne strategie mogą być skierowane przeciwko ścieżkom sygnalizacyjnym związanym z funkcjonowaniem CSCs, na przykład ścieżce inicjowanej przez receptor Wnt. Pierwsze sukcesy zanotowano już w przypadku raka skóry, gdzie wyłączenie tej ścieżki na etapie β -kateniny niszczy CSCs i umożliwia całkowity regres choroby w modelu mysim [19].

PODSUMOWANIE

Komórki macierzyste od momentu ich odkrycia stanowią wciąż zagadkę, nad której rozwiązaniem pracuje coraz więcej grup badawczych. Uzyskiwane informacje stają się źródłem nowych pytań, ponieważ wciąż

są odkrywane nowe aspekty związane z CSCs. Odkrycie CSCs stanowiło bezspornie przełom w badaniach nad rakiem, a metody terapii skierowane przeciwko CSCs prawdopodobnie znacznie poprawią skuteczność leczenia pacjentów onkologicznych. W przypadku nowotworów, gdzie pierwszą i podstawową metodą terapii jest chirurgiczne usunięcie zajętego fragmentu, należy pamiętać, że CSCs mogły już się ode-

brać od guza pierwotnego (dzięki swoim dużym skłonnościom do migracji) i osiąść w innych miejscach. Z dużym prawdopodobieństwem staną się one później źródłem regresji choroby. Z tego powodu wysiłek badaczy obecnie jest skierowany na opracowanie metod terapii uzupełniającej, która byłaby swoista względem mikroprzerzutów niewykrywalnych przy użyciu znanych metod diagnostycznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Stricker T.P., Kumar V. Rozdział 7: Neoplasia. W: Kumar V., Abbas A.K., Fausto N. i wsp. Robbins and Cotran Pathologic basis of disease. Wyd. 8. Philadelphia, Saunders Elsevier Inc. 2010; 259–330.
2. Preston S.L., Alison M.R., Forbes S.J. i wsp. The new stem cell biology: something for everyone. *Mol. Pathol.* 2003; 56: 86–96.
3. Heddleston J.M., Li Z., Lathia J.D. i wsp. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells. *Br. J. Cancer* 2010; 102: 789–795.
4. Lapidot T., Sirard C., Vormoor J. i wsp. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994; 367: 645–648.
5. Tissue renewal, regeneration and repair. W: Kumar V., Abbas A.K., Fausto N. i wsp. Robbins and Cotran Pathologic basis of disease. Wyd. 8. Philadelphia, Saunders Elsevier Inc. 2010; 79–110.
6. Ricci-Vitiani L., Lombardi D.G., Pilozzi E. i wsp. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007; 445: 111–115.
7. Ricci-Vitiani L., Fabrizio E., Palio E. i wsp. Colon cancer stem cells. *J. Mol. Med.* 2009; 87: 1097–1104.
8. Neuzil J., Stantic M., Zobalova R. i wsp. Tumour-initiating cells vs. cancer 'stem' cells and CD133: what's in the name? *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 355: 855–859.
9. Salama P., Platell C. Colorectal cancer stem cells. *ANZ J. Surg.* 2009; 79: 697–702.
10. Takebe N., Ivy S.P. Controversies in cancer stem cells: targeting embryonic signaling pathways. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16: 3106–3112.
11. Wierzbicki P.M., Adrych K., Kartanowicz D. i wsp. Overexpression of the fragile histidine triad (FHIT) gene in inflammatory bowel disease. *J. Physiol. Pharmacol.* 2009; 60 (supl. 4): 57–62.
12. Bissell M.J., Labarge M.A. Context, tissue plasticity, and cancer: are tumor stem cells also regulated by the microenvironment? *Cancer Cell.* 2005; 7: 17–23.
13. Parmar K., Mauch P., Vergilio J.A. i wsp. Distribution of hematopoietic stem cells in the bone marrow according to regional hypoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 104: 5431–5436.
14. Box C., Rogers S.J., Mendiola M., Eccles S.A. Tumour-microenvironmental interactions: Paths to progression and targets for treatment. *Semin. Cancer Biol.* 2010 (on line).
15. LaBarge M.A. The difficulty of targeting cancer stem cell niches. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16: 3121–3129.
16. Neureiter D., Herold C., Ocker M. Gastrointestinal cancer — only a deregulation of stem cell differentiation? *Int. J. Mol. Med.* 2006; 17: 483–489.
17. Miller S.J., Lavker R.M., Sun T.T. Interpreting epithelial cancer biology in the context of stem cells: tumor properties and therapeutic implications. *Biochim. Biophys. Acta* 2005; 1756: 25–52.
18. Sonnenschein C., Soto A.M. Theories of carcinogenesis: an emerging perspective. *Semin. Cancer Biol.* 2008; 18: 372–377.
19. Malanchi I., Peinado H., Kassen D. i wsp. Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on beta-catenin signalling. *Nature* 2008; 452: 650–653.
20. Krivtsov A.V., Twomey D., Feng Z. i wsp. Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9. *Nature* 2006; 442: 818–822.
21. Houghton J., Stoicov C., Nomura S. i wsp. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science* 2004; 306: 1568–1571.
22. Gostjeva E.V., Zukerberg L., Chung D., Thilly W.G. Bell-shaped nuclei dividing by symmetrical and asymmetrical nuclear fission have qualities of stem cells in human colonic embryogenesis and carcinogenesis. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2006; 164: 16–24.
23. Di Stefano A.B., Iovino F., Lombardo Y. i wsp. Survivin is regulated by interleukin-4 in colon cancer stem cells. *J. Cell. Physiol.* 2010 (on line).

24. Zhu Q., Liu J.Y., Xu H.W. i wsp. Mechanism of counterattack of colorectal cancer cell by Fas/Fas ligand system. *World J. Gastroenterol.* 2005; 11: 6125–6129.
25. Creighton C.J., Li X., Landis M. i wsp. Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009; 106: 13 820–13 825.
26. Lluís F., Cosma M.P. Cell-fusion-mediated somatic-cell reprogramming: a mechanism for tissue regeneration. *J. Cell. Physiol.* 2010; 223: 6–13.
27. Schatton T., Murphy G.F., Frank N.Y. i wsp. Identification of cells initiating human melanomas. *Nature* 2008; 451: 345–349.
28. Quintana E., Shackleton M., Sabel M.S., Fullen D.R., Johnson T.M., Morrison S.J. Efficient tumour formation by single human melanoma cells. *Nature* 2008; 456: 593–598.
29. Zheng C, Zhou Q, Wu F i wsp. Semaphorin3F down-regulates the expression of integrin alpha(v)beta3 and sensitizes multicellular tumor spheroids to chemotherapy via the neuropilin-2 receptor in vitro. *Chemotherapy* 2009; 55: 344–352.
30. Chen Y.Y., Wang Z.X., Chang P.A. i wsp. Knock-down of focal adhesion kinase reverses colon carcinoma multicellular resistance. *Cancer Sci.* 2009; 100: 1708–1713.
31. Walia V., Elble R.C. Enrichment for breast cancer cells with stem/progenitor properties by differential adhesion. *Stem. Cells Dev.* 2010 (on line).
32. Wang L., Fortney J.E., Gibson L.F. Stromal cell protection of B-lineage acute lymphoblastic leukemia cells during chemotherapy requires active Akt. *Leuk. Res.* 2004; 28: 733–742.
33. Matsunaga T., Fukai F., Miura S. i wsp. Combination therapy of an anticancer drug with the FNIII14 peptide of fibronectin effectively overcomes cell adhesion-mediated drug resistance of acute myelogenous leukemia. *Leukemia* 2008; 22: 353–360.
34. Okuno M., Kojima S., Matsushima-Nishiwaki R. i wsp. Retinoids in cancer chemoprevention. *Curr. Cancer Drug Targets.* 2004; 4: 285–298.
35. Bao S., Wu Q., McLendon R.E. i wsp. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006; 444: 756–760.