

Received: 2015.04.08
Accepted: 2015.07.30
Published: 2015.09.20

Udział nowotworowych komórek macierzystych w progresywnym wzroście i oporności raka jajnika: prawda czy mit?*

The role of cancer stem cells in progressive growth and resistance of ovarian cancer: true or fiction?

Julia K. Bar, Piotr Grelewski, Anna Lis-Nawara, Kamila Drobnikowska

Zakład Immunopatologii i Biologii Molekularnej, Katedry Patomorfologii i Cytologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Streszczenie

Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że biologiczna heterogenność raka jajnika może być wynikiem obecności niewielkiego odsetka komórek nowotworowych, wykazujących cechy komórek macierzystych, określonych jako nowotworowe komórki macierzyste (cancer stem cells – CSCs). Cechą charakterystyczną tej subpopulacji komórek jest zdolność do samoodnowy. Udział nowotworowych komórek macierzystych w progresywnym wzroście raka jajnika oraz formowaniu przerzutów udokumentowano w licznych badaniach eksperymentalnych. Mechanizmy odpowiedzialne za zdolności migracyjne i zachowanie komórek macierzystych raka jajnika są nadal nieznane. Uważa się, że prawdopodobnie nowotworowe komórki macierzyste mogą determinować oporność raka jajnika na konwencjonalną terapię. Identyfikacja biomarkerów komórek macierzystych stwarza możliwości zastosowania ukierunkowanej terapii prowadzącej do eliminowania lub blokowania tej subpopulacji komórek w raku jajnika. Terapia ukierunkowana na nowotworowe komórki macierzyste raka jajnika może wydłużyć czas przeżycia i ograniczyć ryzyko nawrotów choroby. W pracy przedstawiono dotychczasowy stan wiedzy dotyczący biologii nowotworowych komórek macierzystych raka jajnika z uwzględnieniem ich udziału w procesie formowania przerzutów i indukcji oporności na stosowaną terapię oraz możliwości terapii ukierunkowanej na komórki macierzyste raka jajnika.

Słowa kluczowe: rak jajnika • nowotworowe komórki macierzyste • chemiooporność • przerzuty • terapia ukierunkowana

Summary

Growing evidence indicates that biological heterogeneity of ovarian cancer is associated with a small subpopulation of cancer cells existing within tumor tissue and defined as cancer stem cells (CSCs). This small group of ovarian cells possesses the capacity of self-renewal. Recent data revealed that progression, metastasis and relapse of ovarian cancers are related to the behavior of cancer stem cells. However, how ovarian CSCs maintain their migration properties is still unclear. The clinical relevance of CSCs has been supported by emerging evidence, showing that CSCs are resistant to conventional chemotherapy of ovarian cancer. Identification

*Praca finansowana w ramach działalności statutowej ST755.

	of biomarkers of ovarian cancer stem cells seems to be important for target therapy. Therapeutic strategies aimed at eliminating CSCs in ovarian cancers might extend disease survival and limit recurrence. This review will describe the current knowledge of ovarian CSCs biology and contribution of these cells to metastasis and chemoresistance of ovarian cancer as well as the possibility to use target therapy of ovarian CSCs.
Key words:	ovarian cancer • cancer stem cells • chemoresistance • metastasis • target therapy
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1170054
Word count:	3821
Tables:	–
Figures:	2
References:	43

Adres autorki: prof. dr hab. Julia K. Bar, Zakład Immunopatologii i Biologii Molekularnej, Katedra Patomorfologii i Cytologii Onkologicznej, ul. Borowska 215, 50-556 Wrocław; e-mail: julia.bar@umed.wroc.pl

WSTĘP

Biologiczne zróżnicowanie komórek w obrębie raka jajnika, mimo intensywnych badań, nadal pozostaje niewyjaśnione [28]. Należy podkreślić, że większość chorych kobiet diagnozowanych jest w zaawansowanym stadium choroby z obecnością płynu wysiękowego w jamie otrzewnowej [20,28]. Pięcioletnie przeżycie obserwuje się u 40-50%, a 10-letnie u 10,4% pacjentek z zaawansowanym rakiem jajnika [20]. Jednym z podstawowych pytań, dotyczących biologii raka jajnika, na które nadal brak jednoznacznej odpowiedzi, to jakie molekularne i biologiczne czynniki determinują zróżnicowaną odpowiedź na terapię w grupie chorych kobiet definiowanych przez te same parametry kliniczne [6,8].

Drugim istotnym problem w przebiegu klinicznym raka jajnika jest obecność przerzutów u znacznego odsetka chorych kobiet ze stwierdzoną remisją po zakończeniu terapii [8,28]. W oparciu o liczne badania naukowe można sugerować, że heterogenność raka jajnika może być związana z typem komórki, z której powstał nowotwór [8]. Obecnie rozważane są dwie ścieżki ontogenezy prowadzące do powstania raka jajnika. Model klonalnej ewolucji zakłada, że każda komórka nowotworowa znajdująca się w tkance raka jajnika może doprowadzić do jego rozwoju [8]. Według tej teorii większość komórek w utkanie nowotworu może być zdolna do onkogenezy, przy czym pojedyncze komórki mogą prezentować fenotyp odpowiadający zwiększonej złośliwości, jako wynik nabycia dodatkowych mutacji [8].

Druga koncepcja zakłada, że w rozwój raka jajnika zaangażowane są komórki, które wykazują właściwości funkcjonalne komórek macierzystych [8,19]. Hipotezę indukcji procesu nowotworowego w jajniku z udziałem komórek macierzystych potwierdzono w bada-

niach eksperymentalnych [3,8,28]. Autorzy stawianej hipotezy są zgodni, że w prawidłowych komórkach macierzystych znajdujących się w danym narządzie dochodzi do mutacji w tych samych onkogenach i genach supresorowych, jak w zróżnicowanych komórkach nowotworowych [6,8]. W modelu tym heterogenność komórkowa i hierarchia między komórkami w nowotworze są wynikiem asymetrycznych podziałów nowotworowych komórek macierzystych. Komórką nowotworową zajmującą najwyższą pozycję w hierarchii jest komórka wykazująca zdolność do samoodnowy i migracji [6,8,16].

W tkance raka jajnika stwierdzono niewielki odsetek (0,01-0,1%) komórek, które są zdolne do samoodnowy i mają wspólne biologiczne cechy z prawidłowymi komórkami macierzystymi [3,8,24,28]. Subpopulacja tych komórek została określona jako macierzyste komórki nowotworowe (cancer stem cells - CSCs) [3,8,19,28]. Jednym z istotnych argumentów przemawiających za hipotezą, że rak jajnika to choroba komórek macierzystych, jest jego kliniczny przebieg. Mimo że w zaawansowanym raku jajnika znaczny odsetek komórek nowotworowych jest wrażliwy na stosowaną terapię, jednak u większości chorych kobiet stwierdza się nawrót choroby w czasie krótszym niż 5 lat od rozpoczęcia terapii [8,20]. To, że u większości chorych kobiet z pierwszym nawrotem choroby stwierdza się wrażliwość na drugą linię terapii wskazuje, że wznowa nowotworowa zawiera populację komórek chemiowrażliwych i chemioopornych, co odzwierciedla odmienną zdolność do przeżycia komórek znajdujących się w pierwotnym nowotworze [20]. Poparciem tej obserwacji są wyniki badań Gunjal i wsp. wskazujące, że chemio-/radioterapia powoduje uszkodzenie tkanek narządów prawidłowych. Wytworzone przez uszkodzone narządy mikrośrodowisko umożliwia komórkom CSCs przeżycie, a następnie przerzutowanie [9].

Bapat i wsp. jako pierwsi stwierdzili, że komórki nowotworowe w raku jajnika wykazują zróżnicowane właściwości wzrostowe [3]. Odnotowano, że komórki nowotworowe zawierające markery charakterystyczne dla komórek macierzystych, takich jak: Nestin, Nanog, Oct4, indukowały szybszy wzrost nowotworu w modelu mysim o obniżonej odporności (severe combined immunodeficiency – SCID) aniżeli komórki niewykazujące ich obecności [3]. Cechy biologiczne nowotworowych komórek macierzystych raka jajnika zostały udokumentowane w licznych publikacjach [6,8,28,31]. Komórki te mają wiele wspólnych cech z prawidłowymi komórkami macierzystymi, a jednocześnie wykazują swoiste cechy dla nowotworowych komórek macierzystych [8,10,20,27].

PRAWIDŁOWE I NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZYSTE; PODOBIENSTWA I RÓŻNICE

Za jedną z unikalnych cech prawidłowych i nowotworowych komórek macierzystych uważa się zdolność do samoodnawiania przez podziały mitotyczne oraz różnicowanie we wszystkie rodzaje prawidłowych lub nowotworowych komórek budujących daną tkankę [8,10,27]. W zależności od mikrośrodowiska niszy prawidłowe i nowotworowe komórki macierzyste mogą ulegać podziałom symetrycznym, w wyniku których powstają dwie siostrzane komórki macierzyste lub asymetrycznym prowadzącym do powstania jednej potomnej komórki macierzystej i drugiej wykazującej zdolność do różnicowania [1,6,8,20].

Umiejscowienie prawidłowych i nowotworowych komórek macierzystych w swoistym mikrośrodowisku niszy jest związana z ich małą aktywnością proliferacyjną, co zabezpiecza komórki przed zmniejszeniem ich liczebności [13,16,27,40,43]. Ponadto, komórki macierzyste umiejscowione w niszach mogą funkcjonować w warunkach niedotlenienia [6,24,43].

Ważną umiejętnością prawidłowych i nowotworowych komórek macierzystych jest zapewnienie sobie dostępu do czynników wzrostu. Działanie takie jest stymulowane przez cytokiny, które są autokrynnymi i parakrynnymi czynnikami wzrostu [24]. Oba typy komórek cechują duże zdolności naprawcze DNA, co czyni je opornymi na zmiany genetyczne wywołane promieniami jonizującymi [2,6,10].

Na powierzchni nowotworowych komórek macierzystych występuje wiele markerów powierzchniowych, które są również obecne na prawidłowych komórkach macierzystych. Są to m.in. CD133, CD24, CD44, c-kilt, c-met [8,27,28], które wykazują ekspresję tych samych czynników transkrypcyjnych, takich jak: Oct4, Notch, Sox1, enzymu dehydrogenazy aldehydowej 1, β -kateiny oraz demetylację histonu H3 [6,43].

Komórki somatyczne wykazują określoną liczbę podziałów komórkowych, a proces ten jest kontrolowany przez telomery – terminalne odcinki chromosomów. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że prawidłowe

i nowotworowe komórki macierzyste wykazują dużą aktywność telomerazy, enzymu odpowiedzialnego za wydłużanie telomerów [34].

Mimo wielu podobieństw między prawidłowymi i nowotworowymi komórkami macierzystymi, zidentyfikowane cechy są swoiste dla nowotworowych komórek macierzystych [27,40]. Swoiste cechy nowotworowych komórek macierzystych mogą być wynikiem oddziaływań specyficznego mikrośrodowiska niszy [13,16,40,43]. Jedną z najważniejszych cech jest zdolność nowotworowych komórek macierzystych nie tylko do samoodnawiania się w obrębie nowotworu pierwotnego, ale także w zmianach przerzutowych powstałych w wyniku migracji nowotworowych komórek macierzystych do sąsiadujących i odległych tkanek [2,8,16,31]. Umiejscowienie na obrzeżach tkanki nowotworowej daje CSCs łatwy dostęp do naczyń krwionośnych [3]. Działanie immunosupresyjne CSCs w odniesieniu do komórek układu immunologicznego, indukowanie apoptozy efektorowych komórek tego układu, oporność na chemio-/radioterapię i działanie wolnych rodników umożliwia CSCs przeżycie i rozprzestrzenianie [3,6,8,24].

Do najczęściej ocenianych markerów na powierzchni CSCs można zaliczyć cząsteczki należące do grupy CD (cluster differentiation), takie jak: CD133, CD44, CD24, CD34, c-kit [3,8,24,43]. Ocena tych markerów na powierzchni komórek nowotworowych pozwala na stwierdzenie obecności CSCs w tkance i odróżnienie ich od pozostałych subpopulacji obecnych w strukturach nowotworu [8,43]. Nie pozwala to jednak na różnicowanie między prawidłowymi i nowotworowymi komórkami macierzystymi, co jest istotnym problemem w terapii ukierunkowanej na markery powierzchniowe CSCs [6,8,43].

Podstawowym markerem powierzchniowym, który umożliwia stwierdzenie obecności prawidłowych i nowotworowych komórek macierzystych jest CD133 [8,24,43]. CD133 jest transbłonowym białkiem, którego obecność była obserwowana w licznych nowotworach litych, takich jak: rak stercza, jelita grubego, jajników, piersi, głowy i szyi [3,6,8,26,42,43]. Wykazano, że komórki CD133⁺ mogą się dzielić asymetrycznie z zachowaniem zdolności do samoodnowy [8]. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że komórki raka jajnika CD133⁺ są bardziej odporne na działanie cisplasty niż CD133⁻. W raku jajnika obecność CD133⁺ wiązała się ze złym klinicznym przebiegiem choroby. U chorych kobiet stwierdzono krótsze czasy przeżycia aniżeli w grupie pacjentek z CD133⁻ [28,33]. Ponadto ryzyko nawrotu choroby było większe u kobiet chorych na raka jajnika z obecnością CD133⁺ na komórkach nowotworu w porównaniu z brakiem tego antygenu [3,8,32,33,41]. W modelach zwierzęcych obserwowano, że komórki raka jajnika CD133⁺ były zdolne do szybszego wzrostu i formowania nowotworu niż komórki CD133⁻ [5,8]. Związek między brakiem wrażliwości na terapię a obecnością komórek o fenotypie CD133⁺ był stwierdzony również w rakach jelita grubego, piersi, płuc, głowy i szyi [12,24,26,43]. W nowotworach tych obecność CD133 korelowała z obecnością przerzutów [12,24,26,43].

Receptor powierzchniowy CD44 był stwierdzany na powierzchni komórek nowotworowych wielu nowotworów [3,8,31,43]. Uważa się, że CD44 jest jednym z licznych receptorów występujących na prawidłowych i nowotworowych komórkach macierzystych [24,26]. Za występowaniem CD44 na powierzchni CSCs przemawiają wyniki badań wykazujące bezpośredni związek między ekspresją CD44 a fenotypem komórki macierzystej [43]. Udział receptora CD44 w adhezji, ruchliwości i proliferacji komórek wskazuje na jego znaczenie w rozprzestrzenianiu komórek nowotworowych [24]. W dotychczasowych danych podkreślono, że stwierdzenie obecności komórek CD44+ w utkaniu nowotworu było związane z brakiem wrażliwości na chemioterapię i większym ryzykiem wystąpienia nawrotu choroby [3,8,24,43].

Innym receptorem związanym z fenotypem komórek macierzystych jest receptor CD24 [24]. Obecność CD24 na powierzchni nabłonkowych komórek nowotworowych jest określana jako wskaźnik ich udziału w procesie przerzutowania [24]. Wiele danych wskazuje, że CD24 jest obecny na komórkach nowotworów opornych na chemioterapię i które cechuje zdolność do samoodnowy [8]. W badaniach eksperymentalnych obserwowano, że komórki CD24⁺ wykazują większą zdolność do migracji i inwazji niż CD24⁻ [24,43]. Wprowadzenie komórek CD24⁺ zwierzętom doświadczalnym skutkowało formowaniem nowotworu, podczas gdy komórki CD24⁻ nie indukowały wzrostu guza [8]. Udowodniono, że w rakach jajnika i piersi jednocześnie występowanie receptora CD24 i CD44 charakteryzowało grupę raków o agresywnym biologicznym zachowaniu [1,8].

UDZIAŁ KRĄŻĄCYCH NOWOTWOROWYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH W PROGRESJI RAKA JAJNIKA

Wiele danych wskazuje, że nowotworowe komórki macierzyste są umiejscowione nie tylko w tkance nowotworowej, ale były stwierdzone w krążeniu chorego [16,28,31]. Wykazano, że obecne w tkance nowotworowej komórki macierzyste to grupa heterogenna, w której można wyróżnić subpopulacje o odmiennym biologicznym zachowaniu [2,16]. W obrębie CSCs wyodrębniono frakcję komórek macierzystych niezdolnych do migracji, które określono jako CSCs osiadłe oraz frakcję CSCs zdolnych do migracji [2,16]. CSCs osiadłe w tkance uważa się za prekursor procesu nowotworowego [16,31]. W czasie wzrostu nowotworu nieliczne subklony osiadłe w tkance nowotworowej CSCs mogą nabyć zdolności do migracji, co prowadzi do rozprzestrzenienia komórek nowotworowych i inwazyjnego wzrostu nowotworu [2,16]. Komórki te określono jako migrujące komórki macierzyste (migrating cancer stem cell - MCS-cells) [2,16,31].

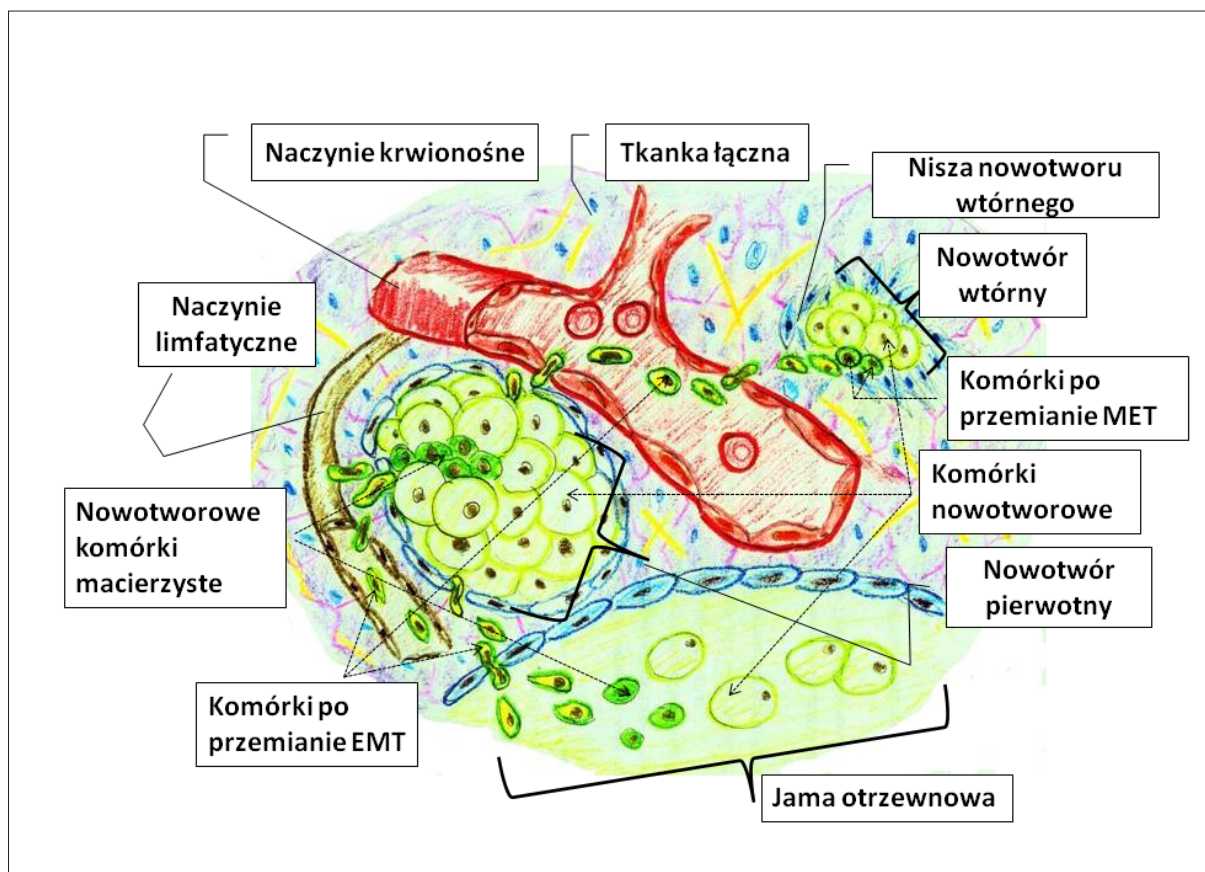
Badania eksperymentalne na modelach zwierzęcych wykazały, że subpopulacja MCS-cell zawiera frakcję CSCs zdolnych do rozpoczęcia procesu przerzutowania [2,16]. Komórki te zdefiniowano jako CSCs – inicjujące przerzutowanie (metastasis initiating cell - MIC) [1,2,16,31]. Uważa się, że MIC wywodzą się z subpopulacji CSCs obecnych

w strukturach nowotworu na późnym etapie jego rozwoju [2]. Inicjujące komórki przerzutowe mogą dawać przerzuty rozprzestrzeniając się do szpiku kostnego, wówczas określane są jako komórki przerzutujące (disseminated tumor cells - DTCs) [2]. Mogą się też rozprzestrzeniać przez naczynia krwionośne lub limfatyczne i dawać przerzuty w narządach odległych. Komórki te określane są jako krążące komórki nowotworowe (circulating tumor cells - CTCs) [2,16,28].

Zakłada się, że w obrębie populacji krążących komórek nowotworowych jest subpopulacja komórek o aktywności komórek macierzystych, które prawdopodobnie wyemigrowały z nowotworu pierwotnego, przeniknęły do krążenia, są odporne na terapię i pozostają tam do czasu zasiedlenia organu wtórnego [2,16,31,37]. Wiele dowodów wskazuje na istotną rolę krążących CSCs w formowaniu przerzutów odległych [16,31,37].

W rakach piersi obecność krążących CSCs stwierdzono u 66,7% chorych [36]. Badania Baccelli i wsp. wykazały, że krążące nowotworowe komórki chorych na raka piersi zawierały subpopulację CSCs, w której stwierdzono obecność MIC [1]. Wprowadzenie tych komórek do szpiku kostnego wcześniej naświetlonych promieniami UV myszy skutkowało powstaniem przerzutów w płucach i wątrobie [1]. U pacjentek chorych na raka piersi, u których stwierdzono frakcję CSCs krążącą z obecnością na powierzchni komórek CD44, CD47 oraz MET obserwowano większą liczbę przerzutów [1]. W rakach jelita grubego obecność krążących komórek nowotworowych CD133⁺ korelowała z obecnością przerzutów i gorszym rokowaniem chorego [12].

Istotną rolę w rozprzestrzenianiu się raka jajnika przypisuje się krążącym komórkom macierzystym obecnym w jamie otrzewnowej [23]. Rizzo i wsp. stwierdzili, że płyny wysiękowe kobiet chorych na raka jajnika, u których nastąpiła wznova procesu nowotworowego zawierały wysoki odsetek komórek macierzystych w porównaniu do chorych chemiowrażliwych [25]. Znaczenie krążących komórek macierzystych w raku jajnika może w większym stopniu wpływać na progresję choroby aniżeli w innych litych nowotworach, ze względu na ich obecność w płynie wysiękowym w jamie otrzewnowej [25]. W świetle ostatnich badań, wskazujących na interakcje między komórkami śródbłonna jamy otrzewnowej, a komórkami raka jajnika CD133⁺, rola krążących nowotworowych komórek macierzystych obecnych w płynie wysiękowym może mieć decydujące znaczenie w tworzeniu wewnątrzotrzewnowych ognisk przerzutowych u kobiet chorych na raka jajnika [23]. Ocena komórek CD133⁺ w płynie wysiękowym może więc stanowić wskaźnik klinicznego przebiegu choroby [8,23]. W opinii niektórych autorów w ocenie ryzyka nawrotu procesu nowotworowego poza obecnością CSCs należy uwzględnić stężenie chemokin prozapalnych oraz ich receptorów, takich jak czynnik wzrostu pochodzenia stromalnego 1 (SDF-1), czynnik wzrostu hepatocytów (HGF/SF), czy czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) [9].



Ryc. 1. Proponowany model udziału nowotworowych komórek macierzystych w progresywnym wzroście i formowaniu przerzutów raka jajnika. W niewielkim odsetku komórek osiadłych w tkance pierwotnego raka jajnika następuje zmiana fenotypu z nabłonkowego w mezenchymalny (epithelial - mezenchymal transition - EMT), komórki nabywają zdolności do ruchu. Migrujące komórki nowotworowe o fenotypie CSCs mogą się rozprzestrzeniać przez naczynia limfatyczne i krwionośne. W zaawansowanym raku jajnika formowanie przerzutów w jamie otrzewnowej jest wynikiem rozprzestrzeniania się CSCs znajdujących się w płynie wysiękowym

NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZYSTE A PROCES POWSTAWANIA PRZERZUTÓW W RAKU JAJNIKA

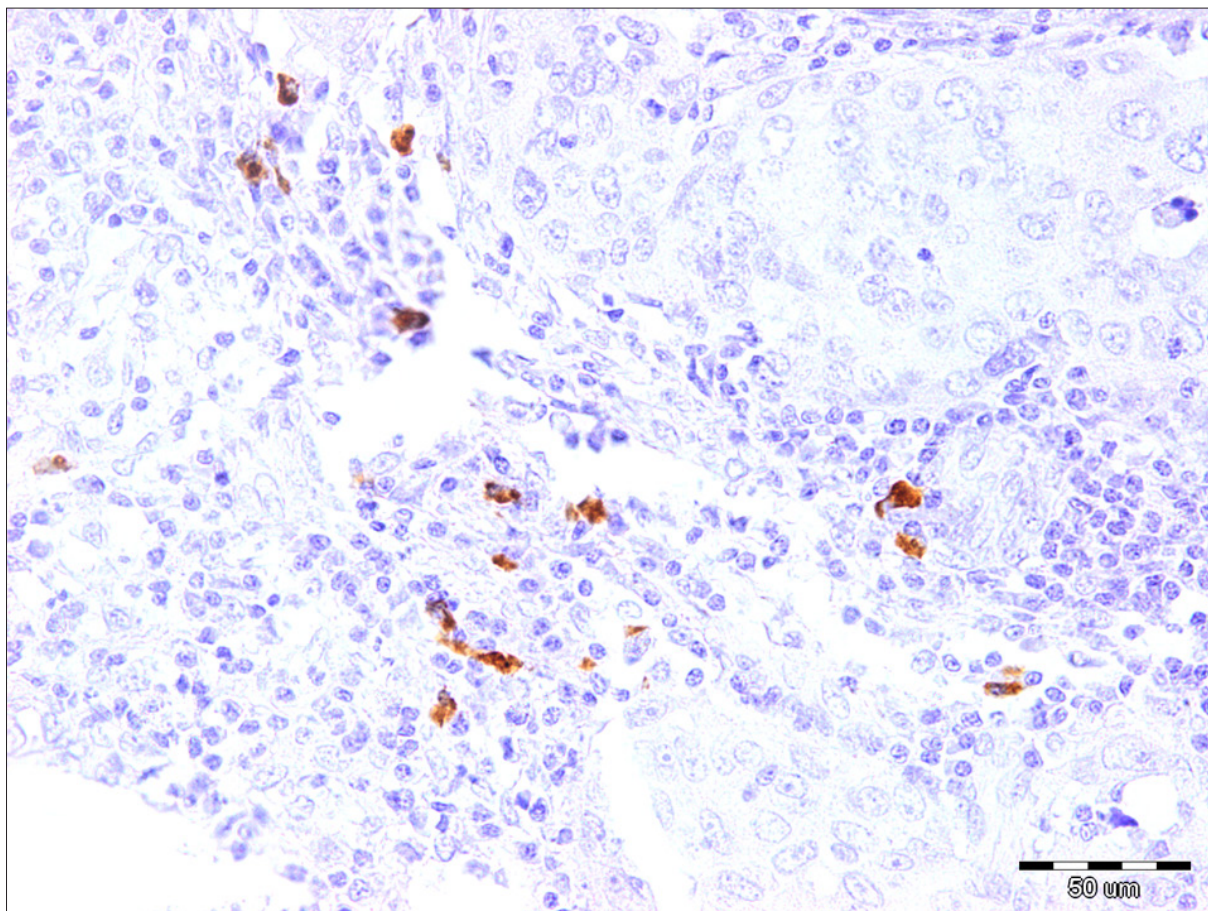
W raku jajnika, w przeciwieństwie do nowotworów innych narządów, których większość rozprzestrzenia się przez naczynia krwionośne i limfatyczne, najczęstszą drogą przerzutowania jest naciekanie jamy otrzewnowej [23]. Wiele danych wskazuje, że w proces ten są zaangażowane CSCs, co zostało poparte wynikami badań eksperymentalnych [2,8,16].

Autorzy podkreślają, że zarówno w obrębie CSCs jak i określonego klonu CSC istnieje hierarchia i tylko nieznaczne CSC biorą udział w powstawaniu przerzutów [2,16]. Możliwe szlaki rozprzestrzeniania komórek raka jajnika przedstawiono na rycinie 1. Udowodniono, że około 0,1-20% CSCs obserwowanych w strukturach tkanki nowotworowej ma szczególne cechy biologiczne, które wpływają na ich agresywne zachowanie, wyrażające się m.in. zdolnością do przerzutowania [2,8,16]. Komórki te cechuje zmiana fenotypu z komórki nabłonkowej w mezenchymalną (epithelial to mesenchymal transition - EMT) [2,7,40]. W czasie tej przemiany komórki tracą adhezyj-

ność, zmienia się ich polaryzacja, stają się niewrażliwe na procesy apoptotyczne i są zdolne do uwolnienia się z nowotworu pierwotnego oraz inwazyjnego wzrostu [2,7,10]. Pojawienie się na powierzchni CSCs charakterystycznych dla komórek mezenchymalnych czynników transkrypcyjnych (TWIST1/1, SNAIL1/2) oraz antygenów (N-kadheryny, wimentyny) wskazuje na zmianę fenotypu z nabłonkowego w mezenchymalny i przemawia za ich udziałem w procesie przerzutowania [2,16,40,43].

W oparciu o liczne badania ustalono, że nowotworowe komórki macierzyste o zwiększonym potencjale migracyjnym wykazują obecność licznych markerów powierzchniowych, m.in.: CD44, CD133, CD177 oraz podwyższone stężenie ALDH1A [1,2,8,16]. Uważa się, że fenotyp nowotworowych komórek macierzystych biorących udział w procesie przerzutowania, może być cechą indywidualną komórek nowotworowych danego narządu [2,16,17].

Badania *in vitro* i *in vivo* z udziałem macierzystych komórek raka jajnika CD133⁺ wykazały ich inwazyjny charakter [8,17,23]. Udowodniono, że komórki raka jajnika CD133⁺ cechował szybki wzrost, duża ruchliwość oraz wykazywa-



Ryc. 2. Immunoreaktywność CD133 w zaawansowanym raku jajnika. Nieliczne komórki raka jajnika wykazują obecność CD133 (metoda: awidyna-biotyna ABC) x400

ły zwiększoną zdolność do tworzenia przerzutów [17,23]. Badania potwierdzają udział CSCs CD133⁺ w progresywnym wzroście raka jajnika [34]. Porównując ekspresję CD133 w tkankach pierwotnego raka jajnika i tkance pochodzącej z pierwszej wznowy autorzy stwierdzili istotny wzrost ekspresji CD133 we wznowie nowotworowej [33]. Również w badaniach własnych obecność nowotworowych komórek CD133⁺ była częściej obserwowana w zaawansowanych rakach jajnika z obecnością płynu wysiękowego w jamie otrzewnowej i wykazujących niski stopień morfologicznej dojrzałości (ryc. 2).

Zdaniem niektórych autorów nowotworowe komórki macierzyste CD133⁺ wymagają dodatkowych bodźców zwiększających ich inwazyjność [23,42]. W stymulację nowotworowych komórek CD133⁺ są zaangażowane receptory dla chemokin występujące na ich powierzchni [17]. Szczególną wagę przypisuje się receptorowi CXCR4 [23]. Receptor CXCR4 po związaniu z chemokiną SDF1 parakrynnie aktywuje szlak prowadzący do zwiększonej proliferacji i migracji komórki nowotworowej [23]. W opinii niektórych autorów stwierdzenie odmiennego profilu receptorów dla chemokin na powierzchni komórek CD133⁺ i CD133⁻ może wpływać na potencjał przerzutowy tych komórek [17,23,42].

W raku jajnika rozważa się udział trzech receptorów dla chemokin: CXCR1, CXCR2 i CXCR4 we wzroście potencjału przerzutowego komórek CD133⁺ [17]. W ujęciu oddziaływań para-/autokrynnych w raku jajnika znaczenie tych receptorów wydaje się istotne w interakcjach między komórkami śródbłonna a CSCs [17,23,24]. Badania Mitsui i wsp. potwierdziły wpływ receptora CXCR4 na aktywność migracyjną komórek raka jajnika CD133⁺ [23]. Aktywowanie tych receptorów na powierzchni komórek macierzystych może zwiększyć tempo rozprzestrzenienia się komórek nowotworowych [24]. Podobny mechanizm oddziaływań na komórki nowotworowe CD133⁺ przez aktywację receptora CXCR4 chemokiną SDF-1 zaobserwowano w rakach jelita grubego [42]. Zhang i wsp. stwierdzili, że obecność receptora CXCR4⁺ na powierzchni macierzystych komórek raka jelita grubego jest niezbędna do ich udziału w procesie przerzutowania [42].

Innym markerem, zwiększającym zdolność komórek raka jajnika CD133⁺ do migracji jest enzym ALDH, którego podwyższone stężenie w komórkach CD133⁺ zwiększa ich aktywność proliferacyjną i zdolność do formowania nowotworu [8,24]. Udokumentowana została również rola receptora CD44 na powierzchni CSCs CD133⁺ jako czynnika biorącego udział w formowaniu przerzutów [3,8,24].

Wstępne badania wskazują, że w progresywny wzrost raka jajnika są zaangażowane komórki nowotworowe zarówno o fenotypie CD133⁺/ALDH⁺, jak i CD44⁺/CD117⁺ [8]. Niski odsetek komórek CD133⁺, CD44⁺ i ALDH1A⁺ w tkankach pierwotnego raka jajnika, a ich wzrost w tkankach przerzutów wskazuje na ich udział w procesie przerzutowania tego nowotworu [33].

Należy jednak podkreślić, że stwierdzenie obecności nowotworowych komórek macierzystych w tkance nowotworowej nie zawsze jest jednoznaczne z ich udziałem w procesie nowotworzenia, jak i progresywnego wzrostu nowotworu [16]. Wynika to z biologicznego zachowania CSCs, hierarchii w obrębie klonu oraz oddziaływań mikrośrodowiska niszy, a także obecności w niszach tkanki nowotworowej uśpionych komórek macierzystych [3,5,13].

Zaproponowany w 2012 r. model udziału CSCs w procesie przerzutowania (metastatic cancer stem cells – MCSCs) uwzględniający obecność zróżnicowanych funkcjonalnie klonów CSCs w populacji nowotworowych komórek macierzystych znajduje potwierdzenie w procesie przerzutowania raka jajnika [2]. Przebieg kliniczny raka jajnika, częste wznovy procesu nowotworowego, obecność płynu wysiękowego w jamie otrzewnowej chorych kobiet, w którym stwierdzono obecność krążących CSCs stanowią niepodważalne dowody udziału CSCs w przerzutowaniu raka jajnika [8,11,23,28,32,41].

UDZIAŁ NOWOTWOROWYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH W LEKOOPORNOŚCI RAKA JAJNIKA

Badacze są zgodni, że jednym z elementów wpływających na oporność raka jajnika na stosowaną radio-/chemioterapię mogą być nowotworowe komórki macierzyste [8,28,33]. Obecnie stosowane leczenie jest skuteczne w odniesieniu do zróżnicowanych komórek nowotworowych, natomiast nowotworowe komórki macierzyste nie są eliminowane [5,10,21,38].

Do czynników umożliwiających komórce nowotworowej przeżycie po radio-/chemioterapii należy zaliczyć wzrost ekspresji białek transportowych (ATP binding cassette – ABC), ekspresję białek antyapoptotycznych, niedotlenienie komórki, zwiększoną aktywność enzymów naprawczych, angiogenezę niszy oraz stan uśpienia komórki [10,38]. Autorzy są również zgodni, że wysoki odsetek nawrotów obserwowany po terapii raka jajnika sugeruje, że doszło do selekcji klonów opornych na leczenie, które indukują agresywne biologiczne zachowanie raka jajnika [5,6,21]. Uważa się, że za oporność raka jajnika i wielu innych litych nowotworów mogą być odpowiedzialne CSCc CD133⁺ [6,11,26,32,42,43]. Zakłada się, że brak wrażliwości komórek CD133⁺ na terapię jest uwarunkowany dużym stężeniem białek transportowych z rodziny ABC [5,6,8,10].

Markerem definiującym oporność nowotworowych komórek macierzystych jest enzym ALDH lub jego izoforma typ1 (ALDH1A) [38]. Podwyższoną aktywność ALDH i ALDH1A wykazano w komórkach linii raka jajnika, które były opor-

ne na działanie cisplatyny i taksolu [5,15]. Natomiast w badaniach klinicznych ocena stężenia ALDH1A oraz odsetka CD133⁺ w tkankach pobranych ze wznovy raka jajnika po pierwszej linii terapii wykazała duże stężenie tego enzymu i wzrost liczby komórek CD133⁺ w porównaniu do tkanek pierwotnego raka jajnika [33]. Uważa się, że duże stężenie enzymu ALDH w nowotworowych komórkach macierzystych, powoduje szybką detoksyfikację leków w komórce i oporność na terapię [5,10,38]. Potwierdzeniem zakładanej hipotezy są wyniki badań, które wykazały, że zastosowanie inhibitora aktywności ALDH (ditylaminobenzaldehyd – DEAB) zwiększało wrażliwość komórek raka gruczołu piersiowego na stosowane leki [10,14]. Poglądy autorów są zgodne, że odsetek nowotworowych komórek macierzystych z dużą aktywnością ALDH⁺ lub ALDH1A⁺ obecny w nowotworach litych może mieć istotne znaczenie w ich oporności na stosowaną terapię [8,10,35,40,43].

Według niektórych autorów oporność raka jajnika może być związana z obecnością subpopulacji komórek wykazujących wysoką ekspresję CD44 oraz niską ekspresję CD24 lub jej brak [8,28,32,33]. Na uwagę zasługują obserwacje niektórych autorów, którzy sugerują, że obecność znacznego odsetka komórek (powyżej 25%) CD44⁺/CD24⁺ w płynie wysiękowym kobiet chorych na raka jajnika wiąże się z większym ryzykiem nawrotu procesu nowotworowego [22]. Chemiooporność komórek CD44⁺/CD24⁺ wykazano również w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem linii komórkowych raka jajnika zawierających subpopulację CD44⁺/CD24⁺ [22].

Istnieją prace, w których autorzy podkreślają, że subpopulacja nowotworowych komórek macierzystych CD44⁺/CD117⁺ obecna w tkankach pierwotnego raka jajnika może się przyczyniać do wzrostu oporności na działanie cisplatyny i paklitaksolu [5,6]. W badaniach tych wykazano, że oporność komórek macierzystych raka jajnika CD44⁺/CD117⁺ na działanie 5-fluorouracylu, cisplatyny i karboplatyny może być uwarunkowana wysoką ekspresją białek transportowych ABCB1, ABCG2 oraz ekspresją metaloproteinaz MMP-2, MMP-9 [5].

Na oporność raka jajnika mogą również wpływać zaburzenia w szlakach sygnałowych zróżnicowanych komórek nowotworowych zależnych m.in. od receptorów kinazy tyrozynowej HER2, EGFR oraz nowotworowych komórek macierzystych zależnych od receptorów Wnt, Notch, Hedgehog [6,8,10,14,21].

Mnożość biomarkerów, jakie mogą określać chemio-/radiooporny fenotyp macierzystych komórek nowotworowych w raku jajnika jest wskazaniem do rozważenia personalizacji terapii u chorych ze wznową procesu nowotworowego [28].

MARKERY POWIERZCHNIOWE MACIERZYSTYCH KOMÓREK NOWOTWOROWYCH JAKO CELE UKIERUNKOWANEJ TERAPII

Terapia ukierunkowana na nowotworowe komórki macierzyste jest trudnym zadaniem ze względu na immu-

nofenotypowe podobieństwa nowotworowych komórek macierzystych do komórek prawidłowych [6,8,28,38]. Zdolność do występowania CSCs długo w fazie G₀, zwiększona oporność na apoptozę oraz zdolności naprawcze DNA skutkują brakiem wrażliwości tych komórek na chemio-/radioterapię, umożliwiając powstanie wznowy [8,10,18]. Dodatkową ochroną przed działaniem leków jest duże stężenie białek ABC, telomerazy oraz ekspresja genów kodujących mediatory metabolicznej degradacji leków np. ALDH [3,5,6,8,10,14].

Na obecnym etapie badań nie udało się zdefiniować markera, który byłby swoisty dla nowotworowych komórek macierzystych [3,28,38]. Rozważanych jest kilka schematów terapeutycznych uwzględniających obecność markerów na powierzchni CSCs [6,10]. Do najczęściej wykrywanych należą cząsteczki CD133 i CD44 [8,28,33]. Ich udział w oporności na chemio-/radioterapię wielu nowotworów złośliwych udowodniono w licznych pracach [3,8,18,28].

W przeprowadzonych badaniach eksperymentalnych obniżenie ekspresji CD133 na powierzchni komórek czerniaka z użyciem siRNA zmniejszało tempo wzrostu i migracji komórek nowotworowych oraz ograniczało przerzuty do kręgosłupa [38]. Obiecujące wyniki otrzymano stosując przeciwciała monoklonalne do blokowania epitopów na cząsteczce CD133, co skutkowało indukcją mechanizmu cytotoxyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC) [38]. Zahamowanie wzrostu komórek raka jelita grubego i wątroby w warunkach *in vitro* nastąpiło po wprowadzeniu przeciwciała przeciwko CD133 skoniugowanego z cytostatykiem [10]. Występowanie CD133 w rakach jajnika uzasadnia celowość rozważenia terapii opartej o blokowanie tej cząsteczki [3,17,32]. W najnowszych badaniach do blokowania komórek CD133⁺ wykorzystano nanokapsułki zawierające cytostatyki, które koniugowano z przeciwciałem przeciwko CD133 [4]. Zmniejszenie wzrostu komórek linii raka jajnika IGROV i OVCAR zanotowano stosując koniugat paklitaksel-hialuronowy biokoniugat (ONCOFID™) skierowany przeciwko cząsteczce CD44 [38].

Podobne działanie zanotowano stosując nanocząsteczki zawierające γ-benzyl-L glutaminy (PolyDOX) blokujące receptor CD44. W następstwie działania leku w komórkach stwierdzano wzrost reaktywnych form tlenu powodujący cytotoxyczność komórek CD44⁺ linii raka gruczołu piersiowego MCF-7 [38]. Nanocząsteczki posłużyły również do wprowadzenia siRNA do komórek CD44⁺, powodując ograniczenie wzrostu raka jajnika o 50% w modelu mysim [29].

Wzrost wrażliwości komórek nowotworowych ALDH1⁺ był obserwowany jako wynik blokowania aktywności enzymatycznej dehydrogenazy aldehydowej z wykorzystaniem siRNA przez wyciszenie ekspresji genu dla ALDH w ksenoprzeszczepach raka jelita grubego i raka płuc na modelu mysim [14,15]. Podobne obserwacje zanotowano w raku gruczołu piersiowego, gdzie zablokowanie ekspre-

sji genu ALDH częściowo przywracało wrażliwość komórek nowotworowych na leczenie epirubicyną i taksolą [35]. Wzrost komórek nowotworowych z wysoką ekspresją ALDH był ograniczony w wyniku działania inhibitora (DEAB) tego enzymu w modelu eksperymentalnym [10]. Zastosowanie w raku jajnika metforminu obniżało odsetek nowotworowych komórek macierzystych ALDH⁺ w liniach komórkowych raka jajnika oraz krótkotrwałych hodowlach komórek izolowanych od chorych opornych na stosowaną terapię [30]. Obiecujące wyniki badań uzyskano blokując szlak sygnałowy PI3K w komórkach linii raka jajnika A2780 wykazujących cechy komórek macierzystych z dużym stężeniem ALDH1 [11].

Stwierdzenie nadekspresji receptorów Notch, Hedgehog oraz Wnt w rakach jajnika było przesłanką do rozpoczęcia badań nad określeniem przydatności tych receptorów w terapii celowanej [28]. Blokowanie szlaku sygnałowego zależnego od receptora Notch z użyciem miRNA oraz składowych receptora Wnt (Wnt2B), inhibitorem (imatinibem) prowadziło do zahamowania aktywacji ścieżki sygnałowej zależnej od Wnt [39]. Wzrost wrażliwości na cisplatynę wykazały komórki linii raka jajnika A2780cp20 po zablokowaniu szlaku sygnałowego zależnego od receptora Hedgehog [6,33].

Obniżenie stężenia białek transportowych P-gp, MRP1 przywracające wrażliwość komórek nowotworowych na pochodne cisplatyny i taksol w warunkach eksperymentalnych uzyskano stosując inhibitory białek ABC lub blokując geny związane z opornością wielolekową z użyciem siRNA [6,8,10,38].

Próba wykorzystania nowotworowych komórek macierzystych do immunoterapii nie przyniosła oczekiwanych wyników. Nadal są jednak prowadzone badania nad identyfikacją nowotworowych komórek macierzystych jako potencjalnego źródła antygenów do opracowania szczepionki [13]. Różne metody fizyko-chemiczne były wykorzystywane do niszczenia komórek tworzących niszę komórek macierzystych [38]. Na uwagę zasługują badania, w których wykazano, że zablokowanie receptora CXCR4 oraz hamowanie angiogenezy wyraźnie ograniczało wzrost nowotworu w warunkach eksperymentalnych [8].

PODSUMOWANIE

Liczne badania naukowe wskazują na obecność w tkankach raka jajnika nielicznej subpopulacji komórek nowotworowych, mających cechy biologiczne komórek macierzystych. Definiowanie raka jajnika jako wynik zaburzeń powstałych w prawidłowych komórkach macierzystych stanowi wykładnię do odmiennego podejścia w określaniu mechanizmów odpowiedzialnych za progresywny wzrost tego raka. Kompleksowa ocena cech biologicznych nowotworowych komórek macierzystych oraz identyfikacja swoistych biomarkerów jako celów terapeutycznych, może być przełomem w terapii tych nowotworów, zmniejszającym ryzyko wystąpienia wznowy procesu nowotworowego.

PIŚMIENICTWO

- [1] Baccelli I., Schneeweiss A., Riethdorf S., Stenzinger A., Schilbert A., Vogel V., Klein C., Saini M., Bauerle T., Wallwiener M., Holland-Letz T., Hofner T., Sprick M., Scharpf M., Marme F., Sinn HP., Pantel K., Weichert W., Trumpp A.: Identification of a population of blood circulating tumor cells from breast cancer patients that initiates metastasis in a xenograft assay. *Nat. Biotechnol.*, 2013; 31: 539-544
- [2] Baccelli I., Trumpp A.: The evolving concept of cancer and metastasis stem cells. *J. Cell Biol.*, 2012; 198: 281-293
- [3] Bapat S.A., Mali A.M., Koppikar C.B., Kurrey N.K.: Stem and progenitor-like cells contribute the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res.*, 2005; 65: 3025-3029
- [4] Bourseau-Guilmain E., Bejard J., Griveau A., Lautram N., Hindré F., Weyland M., Benoit J.P., Garcion E.: Development and characterization of immuno-nanocarriers targeting the cancer stem cell marker AC133. *Int. J. Pharm.*, 2011; 423: 93-101
- [5] Chen J., Wang J., Zhang Y., Chen D., Yang C., Kai C., Wang X., Shi F., Dou J.: Observation of ovarian cancer stem cell behavior and investigation of potential mechanisms of drug resistance in three-dimensional cell culture. *J. Biosci. Bioeng.*, 2014; 118: 214-222
- [6] Chen K., Huang Y.H., Chen J.L.: Understanding and targeting cancer stem cells: therapeutic implications and challenges. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2013; 34: 732-740
- [7] Cheung K.J., Ewald A.J.: Illuminating breast cancer invasion: diverse roles for cell-cell interactions. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2014; 30: 99-111
- [8] Foster R., Buckanovich R., Rueda B.: Ovarian cancer stem cells: working towards the root of stemness. *Cancer Lett.*, 2013; 338: 147-157
- [9] Gunjal P.M., Schneider G., Ismail A.A., Kakar S.S., Kucia M., Ratajczak M.Z.: Evidence for induction of a tumor metastasis-receptive microenvironment for ovarian cancer cells in bone marrow and other organs as an unwanted and underestimated side effect of chemotherapy/radiotherapy. *J. Ovarian Res.*, 2015; 8: 20
- [10] Han L., Shi S., Gong T., Zhang Z., Sun X.: Cancer stem cells: therapeutic implications and perspectives in cancer therapy. *Acta Pharm. Sin.*, 2013; 3: 65-73
- [11] Han X., Du F., Jiang L., Zhu Y., Chen Z., Liu Y., Hong T., Wang T., Mao Y., Wu X., Bruce I.C., Jin J., Ma X., Hua D.: A2780 human ovarian cancer cells with acquired paclitaxel resistance display cancer stem cell properties. *Oncol. Lett.*, 2013; 6: 1295-1298
- [12] Hou J.M., Krebs M.G., Lancashire L., Sloane R., Backen A., Swain R.K., Priest L.J., Greystoke A., Zhou C., Morris K., Ward T., Blackhall F.H., Dive C.: Clinical significance and molecular characteristics of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in patients with small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30: 525-532
- [13] Kasai T., Chen L., Mizutani A., Kudoh T., Murakami H., Fu L., Seno M.: Cancer stem cells converted from pluripotent stem cells and the cancerous niche. *J. Stem Cells Regen. Med.*, 2014; 10: 2-7
- [14] Keysar S.B., Jimeno A.: More than markers: Biological significance of cancer stem cell-defining molecules. *Mol. Cancer Ther.*, 2010; 9: 2450-2457
- [15] Landen C.N. Jr, Goodman B., Katre A.A., Steg A.D., Nick A.M., Stone R.L., Miller L.D., Mejia P.V., Jennings N.B., Gershenson D.M., Bast R.C. Jr, Coleman R.L., Lopez-Berestein G., Sood A.K.: Targeting aldehyde dehydrogenase cancer stem cells in ovarian cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2010; 9: 3186-3199
- [16] Liao W.T., Ye Y.P., Deng Y.J., Bian X.W., Ding Y.Q.: Metastatic cancer stem cells: from the concept to therapeutics. *Am. J. Stem Cells*, 2014; 3: 42-62
- [17] Long H., Xie R., Xiang T., Zhao Z., Lin S., Lianq Z., Chen Z., Zhu B.: Autocrine CCL5 signaling promotes invasion and migration of CD133+ ovarian cancer stem-like cells via NF- κ B-mediated MMP-9 upregulation. *Stem Cells.*, 2012; 30: 2309-2319
- [18] Lopez J., Valdez-Morales F.J., Benitez-Briebesca L.B., Cerbon M., Carranca A.G.: Normal and cancer stem cells of the human female reproductive system. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2013; 11: 53-64
- [19] Magee J.A., Piskounova E., Morrison S.J.: Cancer stem cells: impact, heterogeneity, and uncertainty. *Cancer Cell.*, 2012; 21: 283-296
- [20] Malecki M., Anderson M., Beauchaine M., Seo S., Tambokan X., Malecki R.: TRA-1-60⁺, SSEA-4⁺, OCT4A⁺, Nanog⁺ clones of pluripotent stem cells in the embryonal carcinomas of the ovaries. *J. Stem Cell Res. Ther.*, 2012; 2: 130
- [21] McAuliffe S.M., Morgan S.L., Wyant G.A., Tran L.T., Muto K.W., Chen Y.S., Chin K.T., Partridge J.C., Poole B.B., Cheng K.H., Daggett J. Jr, Cullen K., Kantoff E., Hasselblatt K., Berkowitz J., Muto M.G., Berkowitz R.S., Aster J.C., Matulonis U.A., Dinulescu D.M.: Targeting Notch, a key pathway for ovarian cancer stem cells, sensitizes tumors to platinum therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 2939-2948
- [22] Meng E., Long B., Sullivan P., McClellan S., Finan M.A., Reed E., Shevde L., Rocconi R.P.: CD44⁺/CD24⁻ ovarian cancer cells demonstrate cancer stem cell properties and correlate to survival. *Clin. Exp. Metastasis*, 2012; 29: 939-948
- [23] Mitsui H., Shibata K., Suzuki S., Umezumi T., Mizuno M., Kajiyama H., Kikkawa F.: Functional interaction between peritoneal mesothelial cells and stem cells of ovarian yolk sac tumor (SC-OYST) in peritoneal dissemination. *Gynecol. Oncol.*, 2012; 124: 303-310
- [24] Pasquier J., Rafii A.: Role of the microenvironment in ovarian cancer stem cell maintenance. *Biomed Res. Int.*, 2013; 2013: 630782
- [25] Rizzo S., Hersey J.M., Mellor P., Dai W., Santos-Silva A., Liber D., Luk L., Titley I., Carden C.P., Box G., Hudson D.L., Kaye S.B., Brown R.: Ovarian cancer stem cell-like side populations are enriched following chemotherapy and overexpress *EZH2*. *Mol. Cancer Ther.*, 2011; 10: 325-335
- [26] Sanders M.A., Majumdar A.P.: Colon cancer stem cells: implications in carcinogenesis. *Front. Biosci.*, 2014; 16: 1651-1662
- [27] Shackleton M.: Normal stem cells and cancer stem cells: similar and different. *Sem. Cancer Biol.*, 2010; 20: 85-92
- [28] Shah M.M., Landen C.N.: Ovarian cancer stem cells: Are they real and why are they important? *Gynecol. Oncol.*, 2014; 132: 483-489
- [29] Shah V., Taratula O., Garbuzenko G.O., Taratula O.R., Rodriguez-Rodriguez L., Minko T.: Targeted nanomedicine for suppression of CD44 and simultaneous cell death induction in ovarian cancer: an optimal delivery of siRNA and anticancer drug. *Clin. Cancer Res.*, 2013; 19: 6193-6204
- [30] Shank J.J., Yang K., Ghannam J., Cabrera L., Johnston C.J., Reynolds R.K., Buckanovich R.J.: Metformin targets ovarian cancer stem cells in vitro and in vivo. *Gynecol. Oncol.*, 2012; 127: 390-397
- [31] Shiozawa Y., Nie B., Pienta K.J., Morgan T.M., Taichman R.S.: Cancer stem cells and their role in metastasis. *Pharmacol. Ther.*, 2013; 138: 285-293
- [32] Skubitz A.P., Taras E.P., Boylan K.L., Waldron N.N., Oh S., Panoskaltsis-Mortari A., Valleria D.A.: Targeting CD133 in an in vivo ovarian cancer model reduces ovarian cancer progression. *Gynecol. Oncol.*, 2013; 130: 579-587
- [33] Steg A.D., Bevis K.S., Katre A.A., Ziebarth A., Dobbin Z.C., Alvarez R.D., Zhang K., Conner M., Landen C.N.: Stem cell pathways contribute to clinical chemoresistance in ovarian cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2012; 18: 869-881

- [34] Stower H.: Telomeres: stem cells, cancer and telomerase linked by WNT. *Nat. Rev. Genet.*, 2012;13: 521
- [35] Tanei T., Morimoto K., Shimazu K., Kim S.J., Tanji Y., Taguchi T., Tamaki Y., Noguchi S.: 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: 4234-4241
- [36] Theodoropoulos P.A., Polioudaki H., Agelaki S., Kallergi G., Sardiaki Z., Mavroudis D., Georgoulas V.: Circulating tumor cells with a putative stem cell phenotype in peripheral blood of patients with breast cancer. *Cancer Lett.*, 2010; 288: 99-106
- [37] Tinhofer I., Saki M., Niehr F., Keilholz U., Budach V.: Cancer stem cell characteristics of circulating tumor cells. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2014; 90: 622-627
- [38] Vinogradov S., Wei X.: Cancer stem cells and drug resistance: the potential of nanomedicine. *Nanomedicine*, 2012; 7: 597-615
- [39] Wang H., Fan L., Xia X., Rao Y., Ma Q., Yang J., Lu Y., Wang C., Ma D., Huang X.: Silencing Wnt2b by siRNA interference inhibits metastasis and enhances chemotherapy sensitivity in ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2012; 22: 755-761
- [40] Yu Z., Pestell T.G., Lisanti M.P., Pestell R.G.: Cancer stem cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2012; 44: 2144-2151
- [41] Zhang J., Guo X., Chang D.Y., Rosen D.G., Mercado-Urbe I., Liu J.: CD133 expression associated with poor prognosis in ovarian cancer. *Mod. Pathol.*, 2012; 25: 456-464
- [42] Zhang S.S., Han Z.P., Jing Y.Y., Tao S.F., Li T.J., Wang H., Wang Y., Li R., Yang Y., Zhao X., Xu X.D., Yu E.D., Rui Y.C., Liu H.J., Zhang L., Wei L.X.: CD133⁺ CXCR4⁺ colon cancer cells exhibit metastatic potential and predict poor prognosis of patients. *BMC Med.*, 2012; 10: 85
- [43] Zhang Z., Filho M.S., Nor J.E.: The biology of head and neck stem cells. *Oral Oncol.*, 2012; 48: 1-9
-
- Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.