

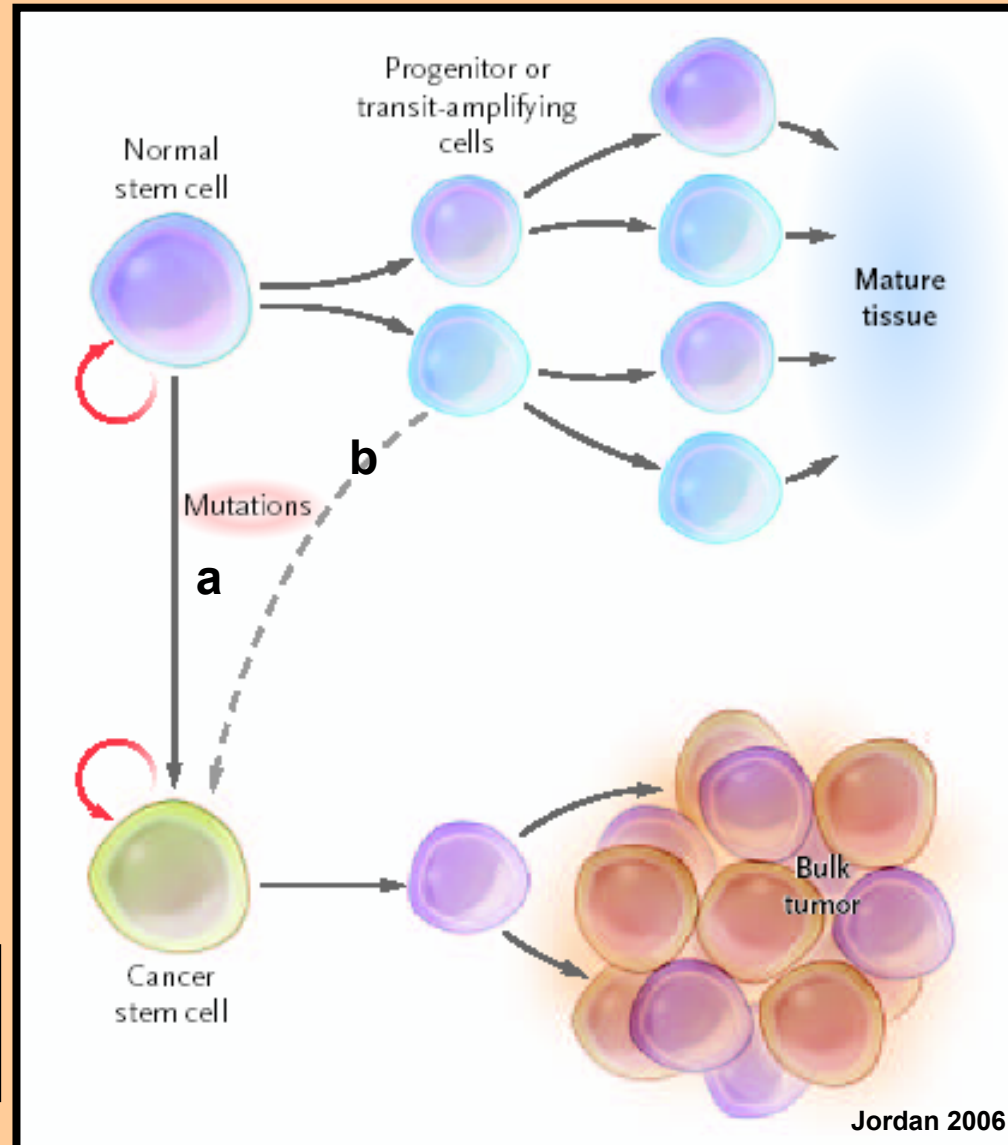
Nádorové kmenové buňky - CSCs (Cancer stem cells)

Původ CSCs ?

- a) somatické kmenové buňky
- b) TA buňky (progenitory)*

Podstatou je akumulace chyb v regulaci diferenciaci, proliferace a apoptózy. Tyto chyby mohou být jak na základě poškození/změn DNA (genů – mutace, translokace,..), tak na úrovni epigenetických mechanismů, případně kombinací obou.

=> chybná odpověď na vnější signály
(růstové faktory, proteiny ECM, buňky)



Jordan 2006

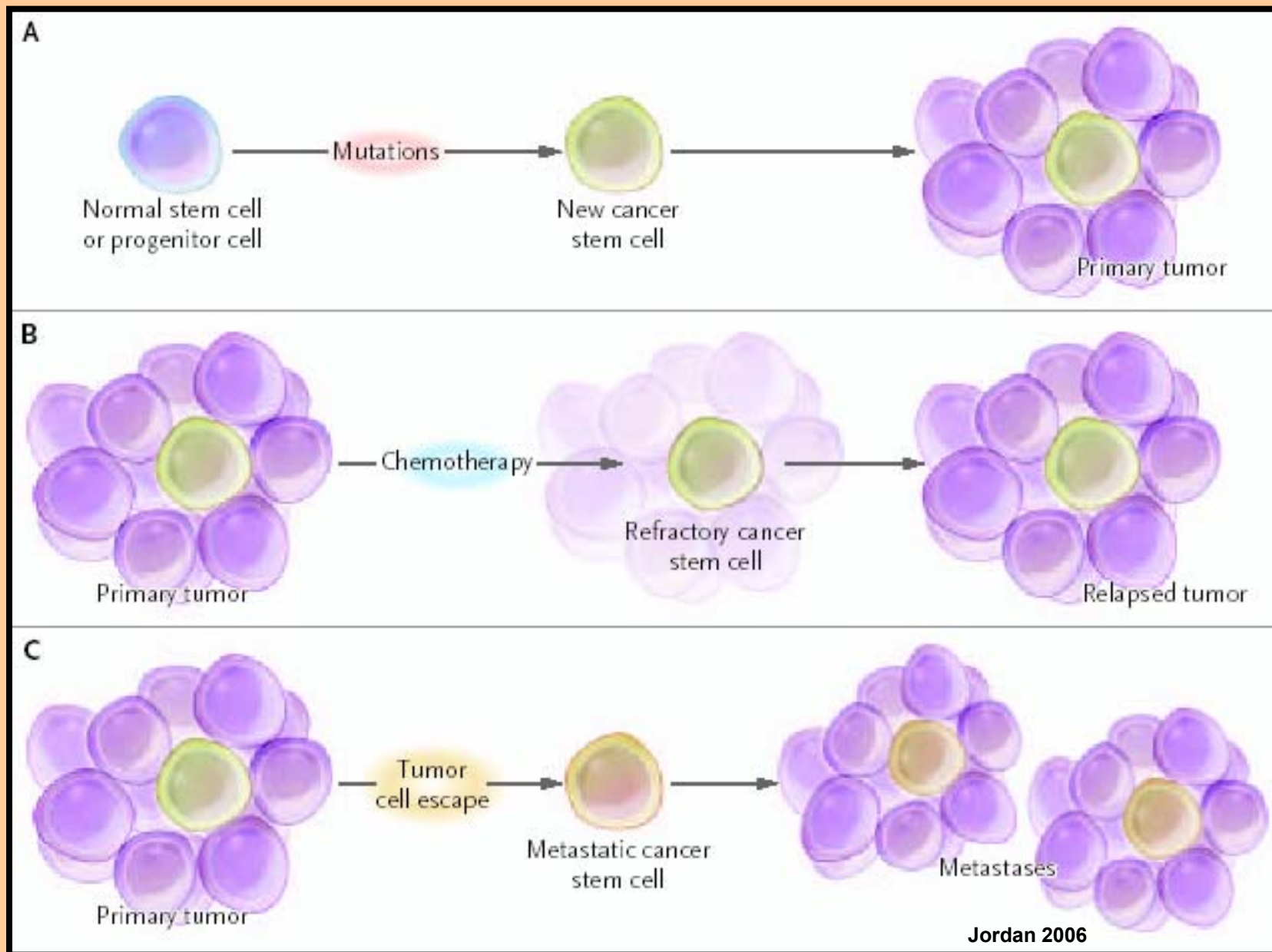
* Lze i experimentálně navodit zvýšením exprese oncogenů, např *ras* + *myc*.

Kmenové buňky nádorů jsou zodpovědné za návrat (relaps) onemocnění a metastáze

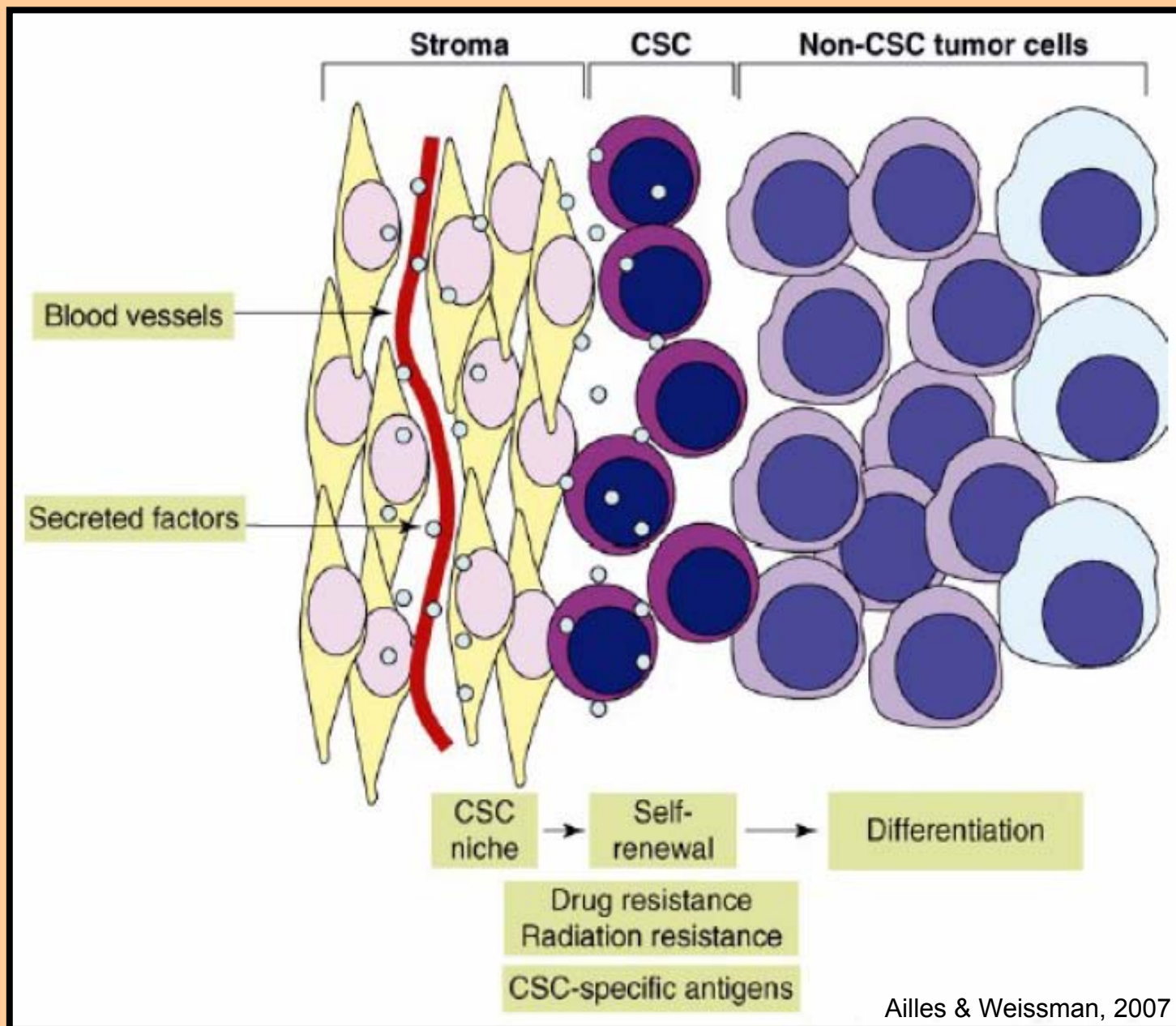
**CSCs podobně jako jiné SSC -> rezistence na toxické faktory (MDR proteiny)
-> pomalá proliferace (=>self-renewal) – in vivo**

- ❖ **mají všechny nádory benigní/maligní/metastázující CSC?**
- ❖ **ne všechny buňky izolované z nádorů jsou schopny dávat nádorům vzniknout**
- ❖ ***in vitro* jsou nádorové linie s SP buňkami (jejich SC ???) i bez SP buněk!**
- ❖ **SSCs jsou pro danou tkáň prakticky stejné, u CSCs to ale neplatí (rozdíly ve fenotypu i genotypu) = mnohé nádory i CSCs mají jedinečné vlastnosti!**
- ❖ **potenciál CSC je závislý na původní buňce -> CSC z diferenciačně časnějších typů mají „agresivnější“ fenotyp**

Kmenové buňky nádorů jsou zodpovědné za návrat (relaps) onemocnění a metastáze

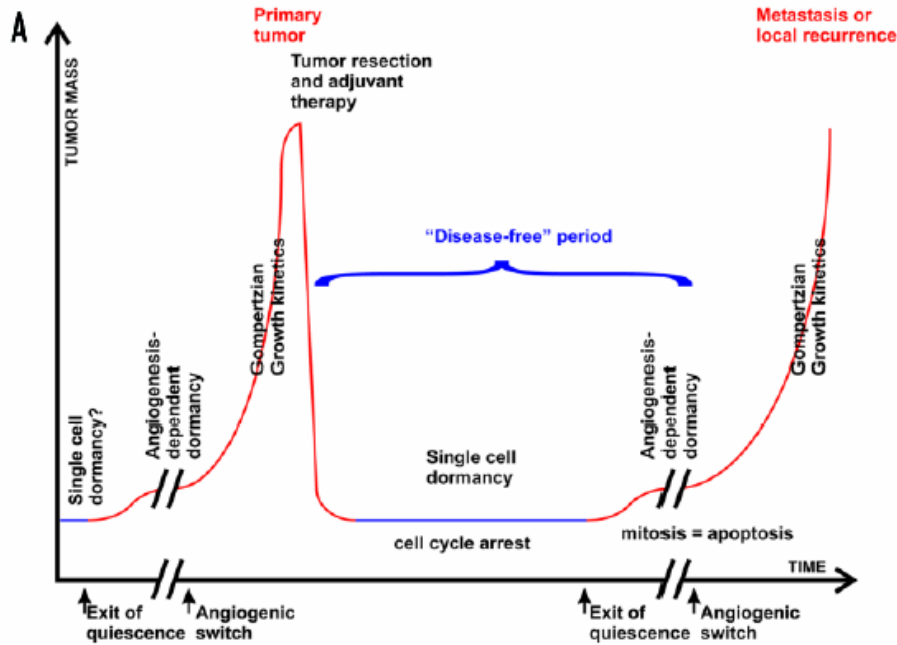


Hypotetický „niche“ nádorových kmenových buněk – model neurální CSC



Model regulace tumorigeneze přesmykem aktivity MAPK Erk a p38

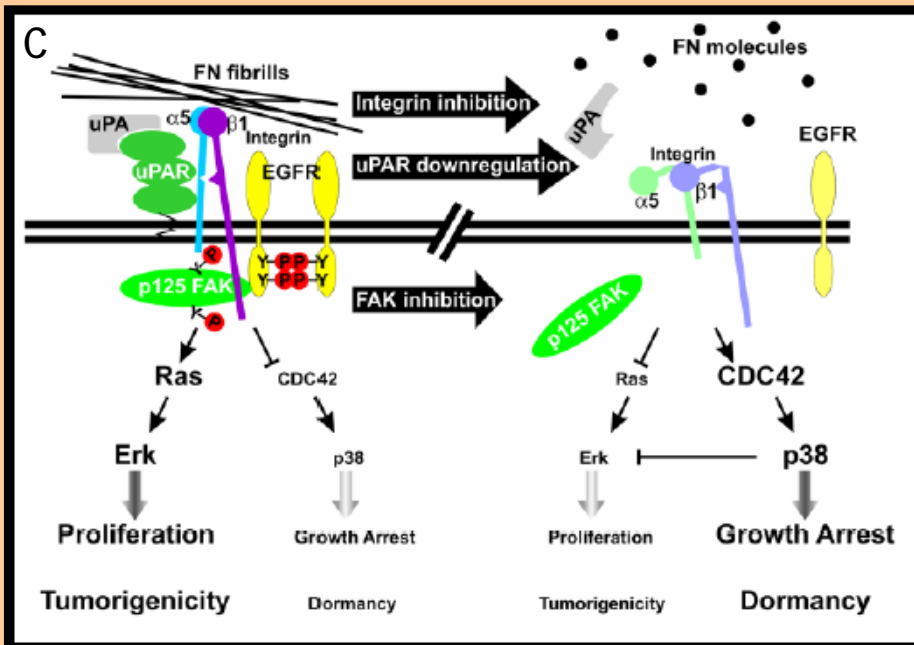
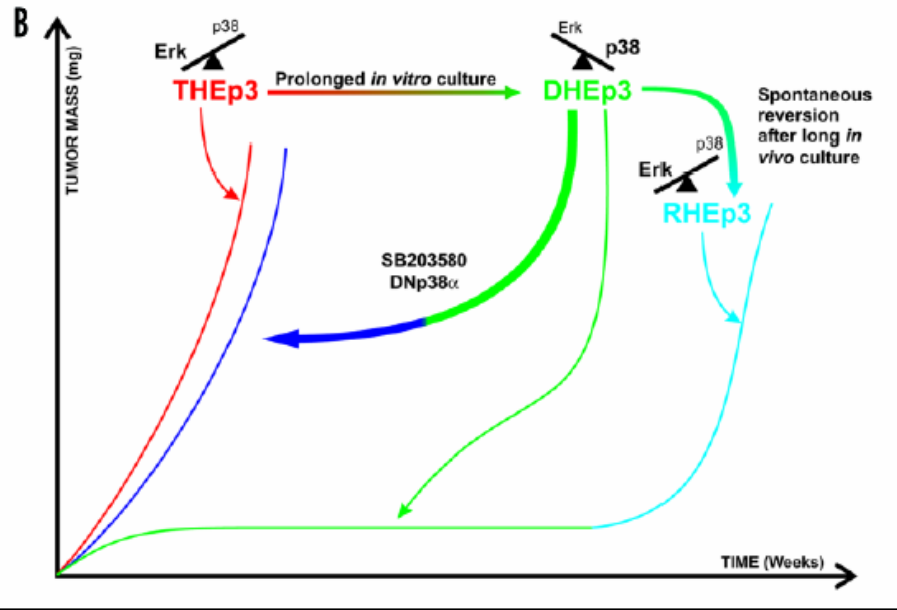
Ranganathan 2006



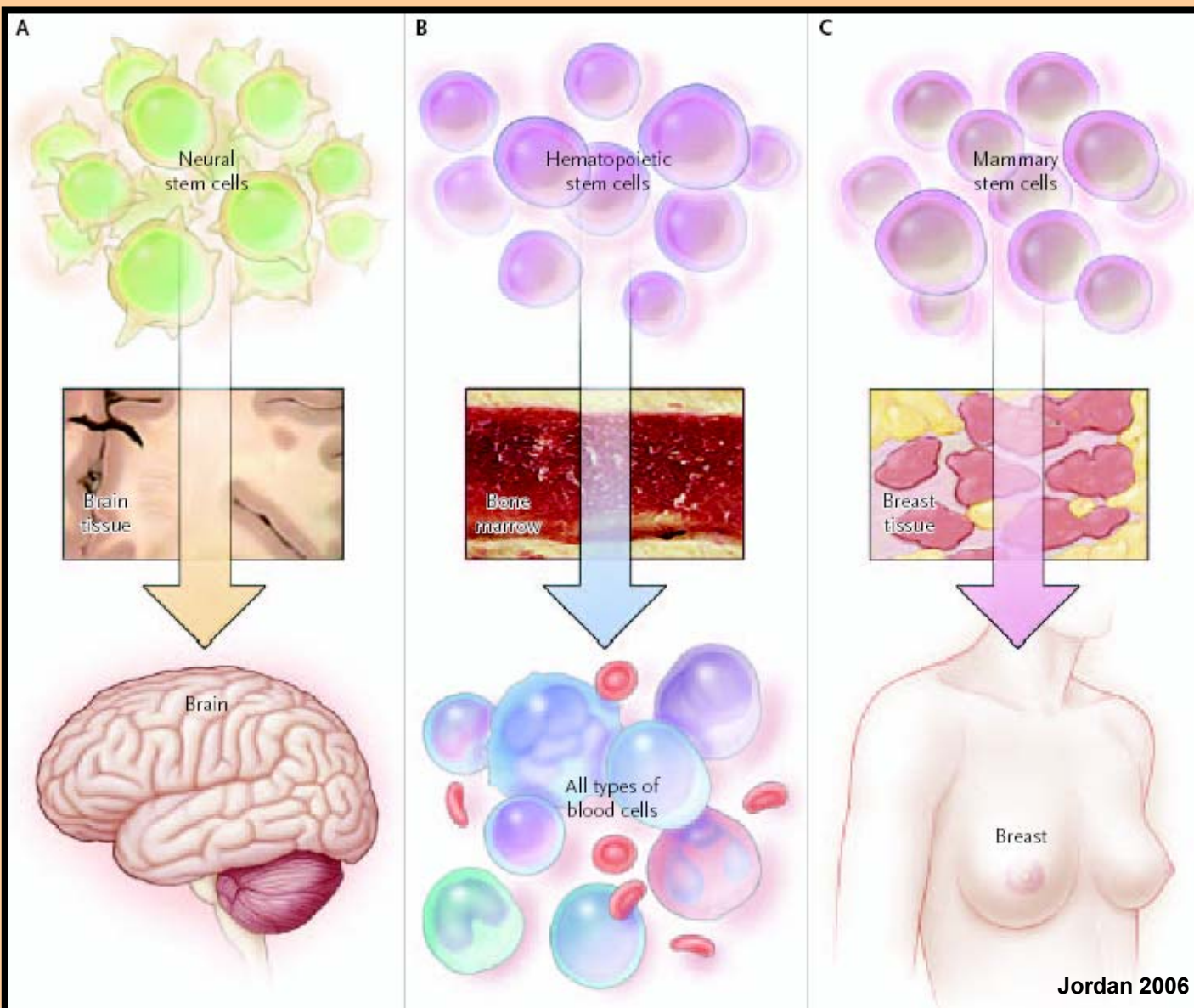
A – znázornění progresu nádoru u pacienta

B – proliferace x dormance (quiescence) nádorových buněk v závislosti na aktivitě MAPK Erk a p38

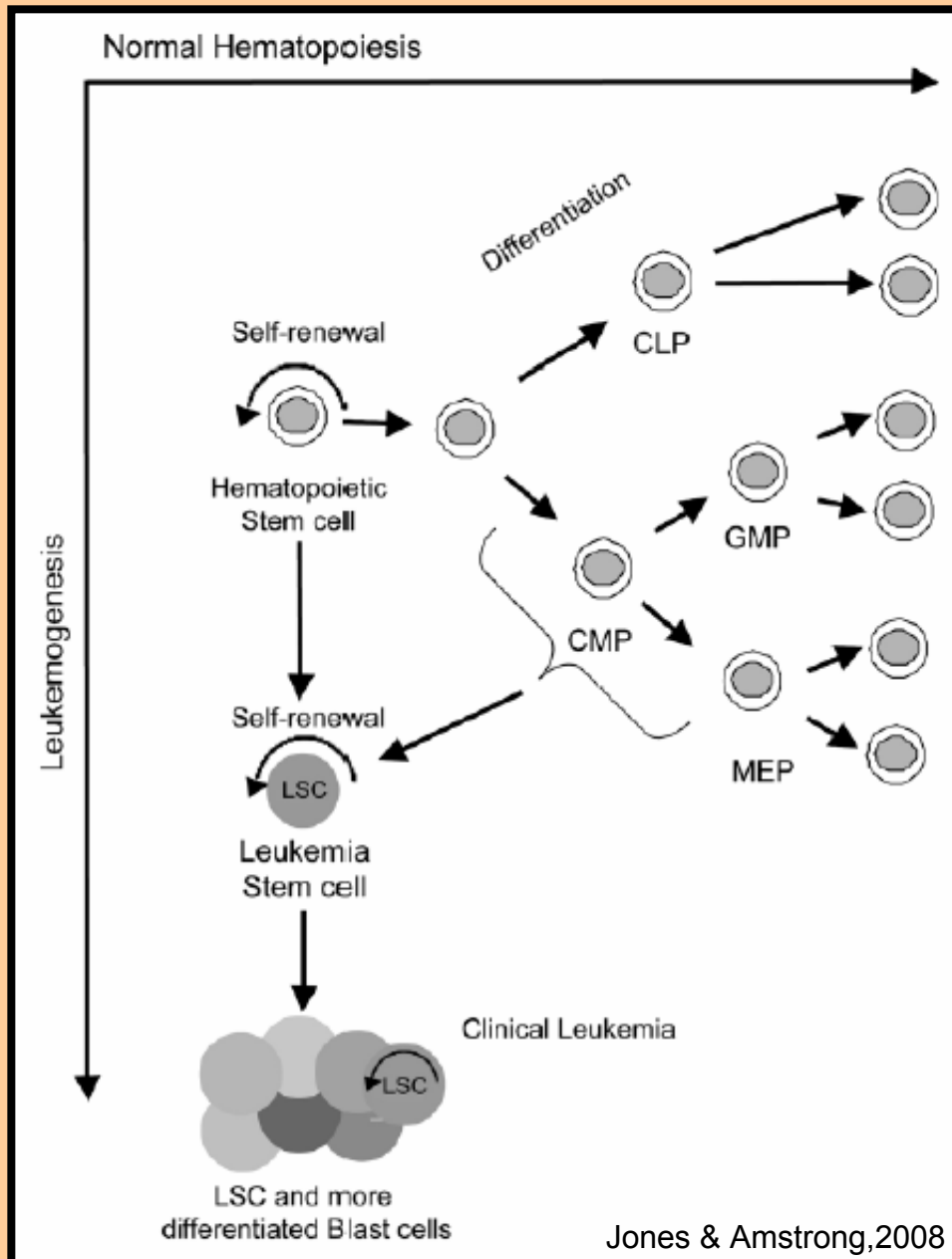
C – mechanismus aktivace Erk a p38



**Dobře prokázané CSCs jsou u nádorů původu
neurálního hematopoetického prsního**



Hematopoetické CSCs



Leukemie podle původu

- **Myeloidní leukémie**
(granulocyty, monocyty, erythrocyty, megakaryocyty)
- **Lymfoidní leukémie**
(B a T buňky, NK buňky)

Hematopoetické CSCs

chronická myeloidní leukemie (**CML**)
akutní myeloidní leukemie (**AML**)
akutní lymfoblastická leukemie (**ALL**)

CSCs byly jasně prokázány u AML a CML, a jsou s vysokou pravděpodobností i u ALL. Díky tomu, je u těchto onemocnění nedostatečné působení běžných antiproliferativních farmak.

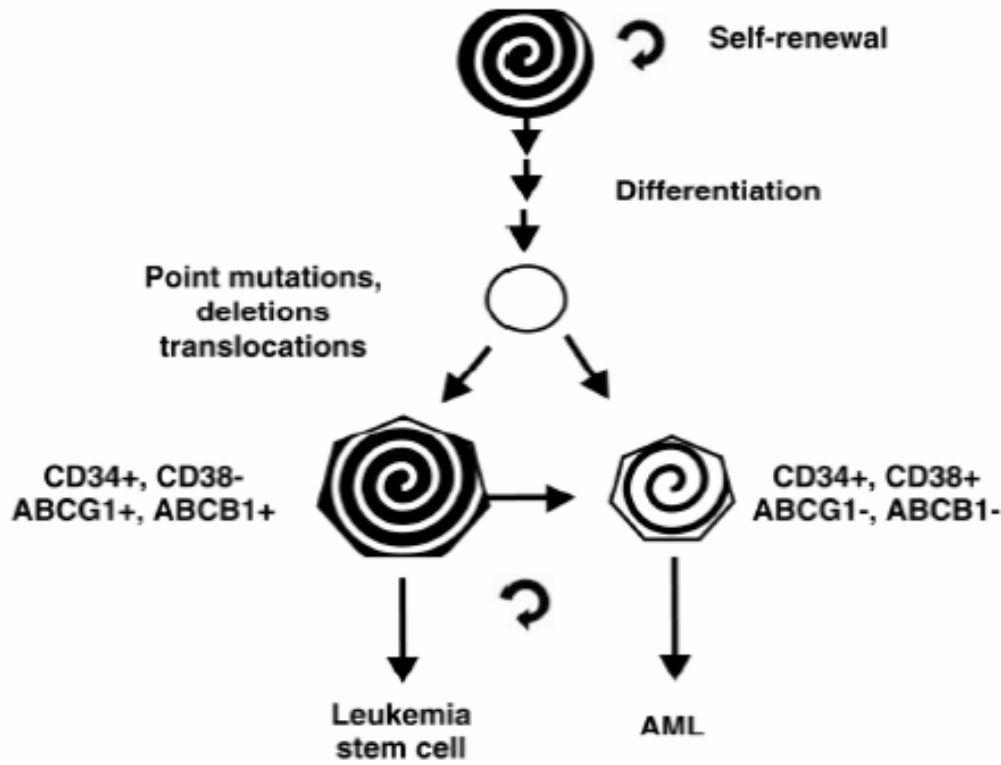
AML - IL3-R⁺ (není u normálních HSCs), CD33⁺ (IgSF, sialoadhesin)

- CD33 se zdá být vhodným pro rozpoznání AML CSCs (imunoterapie), navíc byl prokázán u některých dalších leukemických CSCs.**
- vysoká aktivita NF- κ B a PI3K u AML SCs, ale ne u HSCs, farmakologická inhibice NF- κ B a PI3K nebo mTOR (target of rapamycin; substrát PI3K) snižuje proliferaci AML SCs, ale ne HSCs (=>CSCs specifická terapie)**

CML - charakteristický fúzní gen BCR-ABL (=> nadbytek ABL kinázy), inhibitory ABL (imatinib mesylate, dasatinib) potlačují leukemii, ale ne její SCs, => vysazení vede k obnově onemocnění

BCR-ABL – Breakpoint Cluster Region-Abelson Kinase

Kmenové buňky akutní myeloidní leukémie



- schopné osídlit kostní dřeň příjemce
- schopné indukovat AML
- akumulace nezralých buněk (i bez liniové specifikace)

Able to repopulate
BM in irradiated
NOD-SCID mice

Unable to repopulate
BM in irradiated
NOD-SCID mice



Mouse does
get leukemia



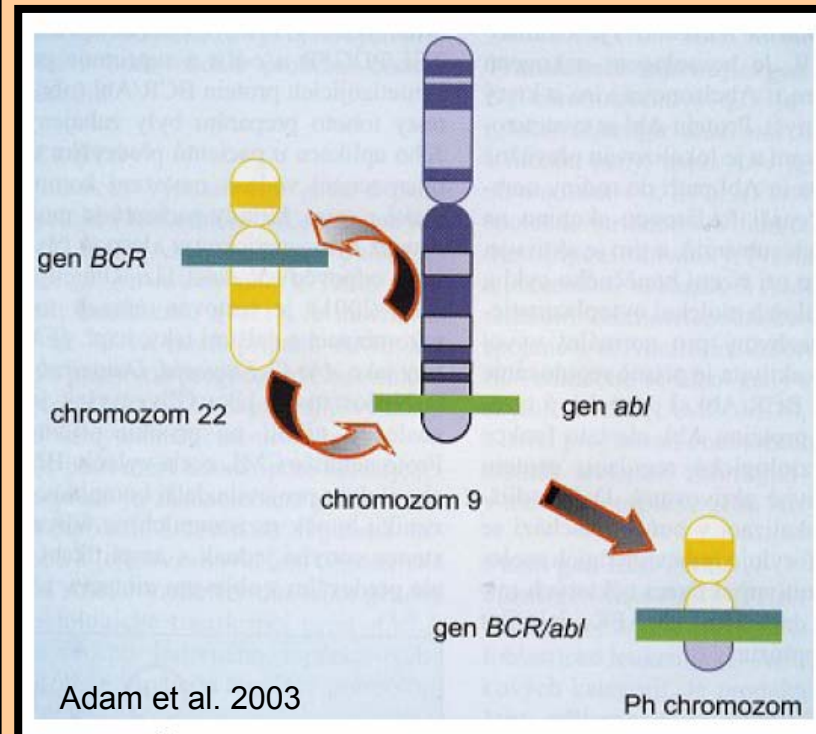
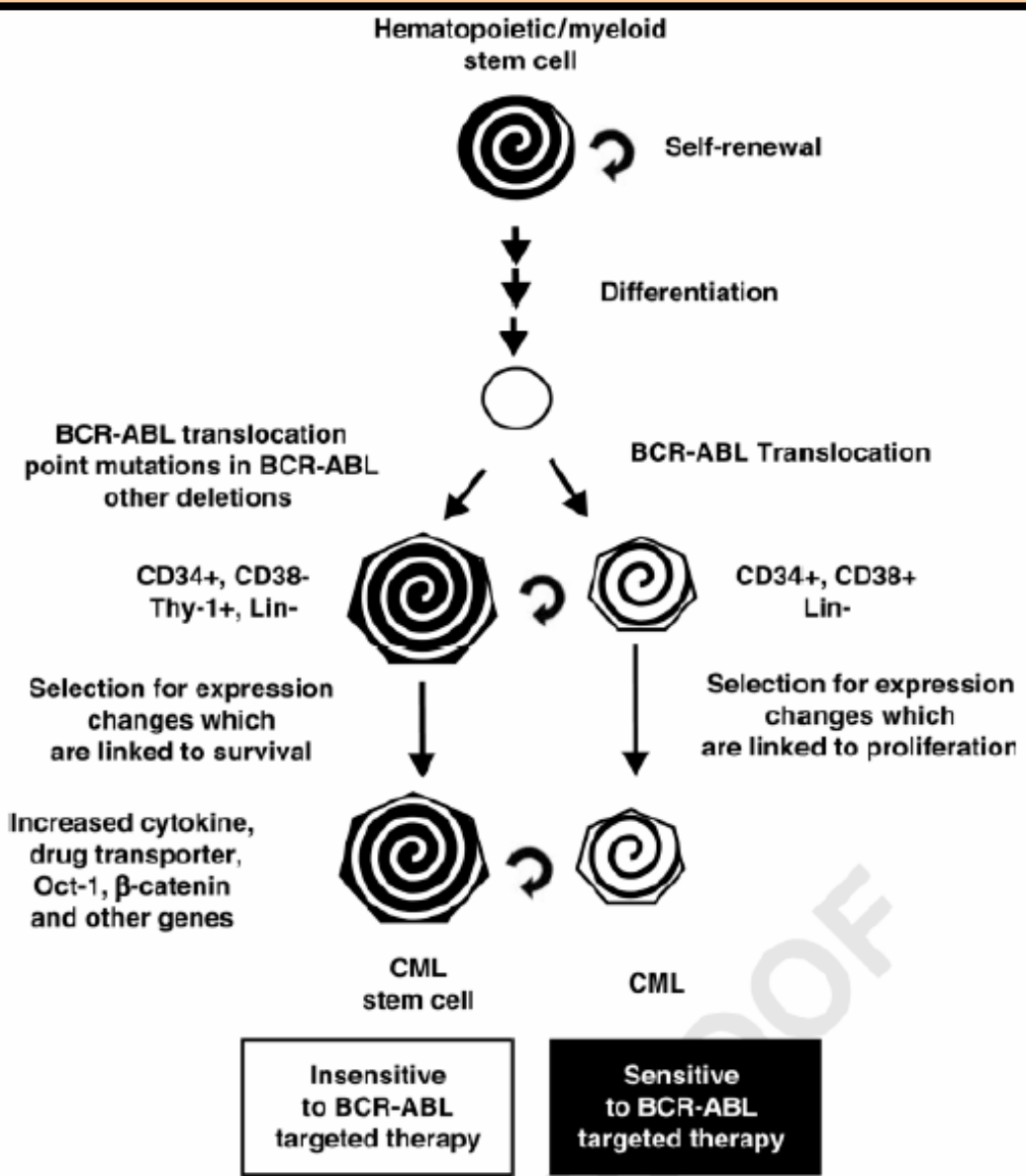
Mouse does
not get leukemia

Kmenové buňky chronické myeloidní leukémie

- fenotypem jsou často velmi podobné normálním HSC

- leukémie tvořena zralými typy buněk (např. granulocyty)

Vznik Philadelphia chromozómu přítomného v buňkách CML



Akutní lymfoidní leukémie – ALL

- příčinou může být vznik Philadelphia chromosomu (fúze Bcr/Abl)
- ALL SC (stejně jako CML) fenotyp CD34⁺CD38⁻
- nadprodukce nezralých lymfoidních buněk

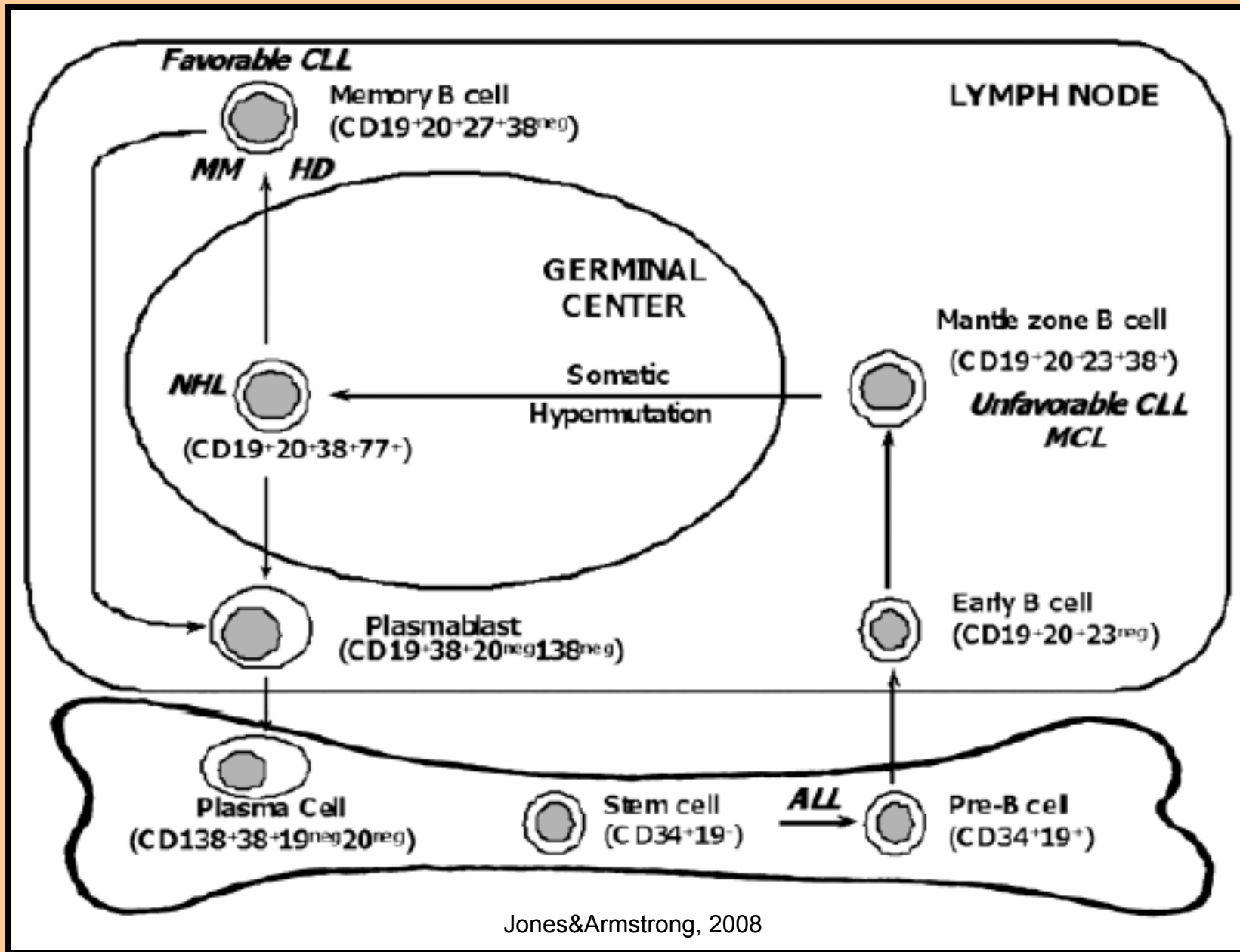
Chronická lymfoidní leukémie – CLL

- nadprodukce B a T lymfoidních buněk
- sebeobnova i u zralých buněk -> CLL SC jak z HCS tak z diferencujících typů

Původ jednotlivých typů

- ✓ HSC nebo pre-B buňky => ALL
- ✓ z B buněk folikulárního pláště (follicular mantle B cells)
=> většina lymfomů + nepříznivá (unfavorable) CLL
- ✓ z B buněk germinálního centra => ne-Hodgkinovy lymfomy
- ✓ z paměťových B buněk
=> mnohočetný myelom, Hodgkinovy lymfomy, příznivá (favorable) CLL

Fenotyp a geneze buněk lymfoidních leukémií

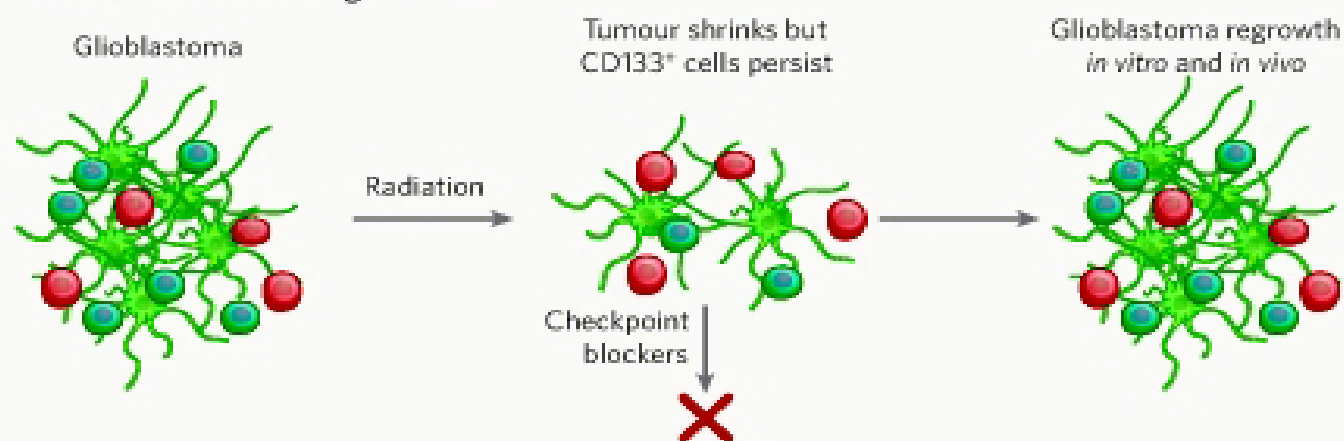


Neurální CSC - NCSC

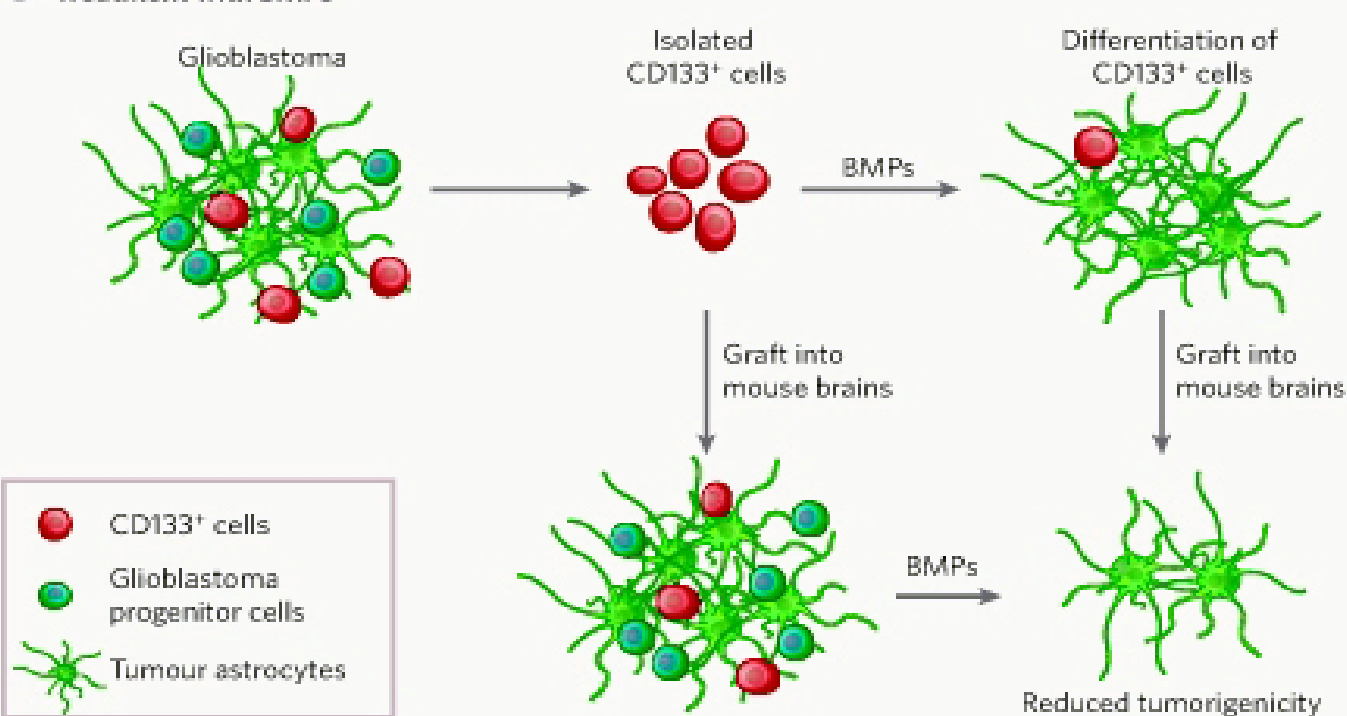
- ❖ neurální CSCs vytvářejí (v kultuře) podobně jako NSCs sférické plovoucí útvary (= neurosféry)
- ❖ neurosféry mohou být rozsuspendovány na jednotlivé buňky, z nichž některé jsou multipotentní a jsou schopné vytvořit novou neurosféru, případně dávat vznik všem známým skupinám neurálních buněk (neurony + glie, stejné pro NSC i NCSC)
- ❖ NSCs i NCSCs exprimují povrchový antigen CD133 (AC133), případně i nestin, u některých gliomů bylo prokázáno, že pouze CD133⁺ buňky izolované z těchto nádorů jsou schopné tyto nádory po transplantaci vyvolávat, kdežto ostatní buňky ze stejného nádoru ne, a to ani v případě aplikace o 10⁴ vyšší koncentrace buněk
- ❖ u NCSCs je také dobře prokázán vznik jak z NSCs, tak z neurálních prekurzorů (TA buněk, pro které jsou známy dlouhodobé kultivační podmínky pro růst *in vitro*)

Glioblastom a potenciální význam BMP pro jeho eliminaci / terapii

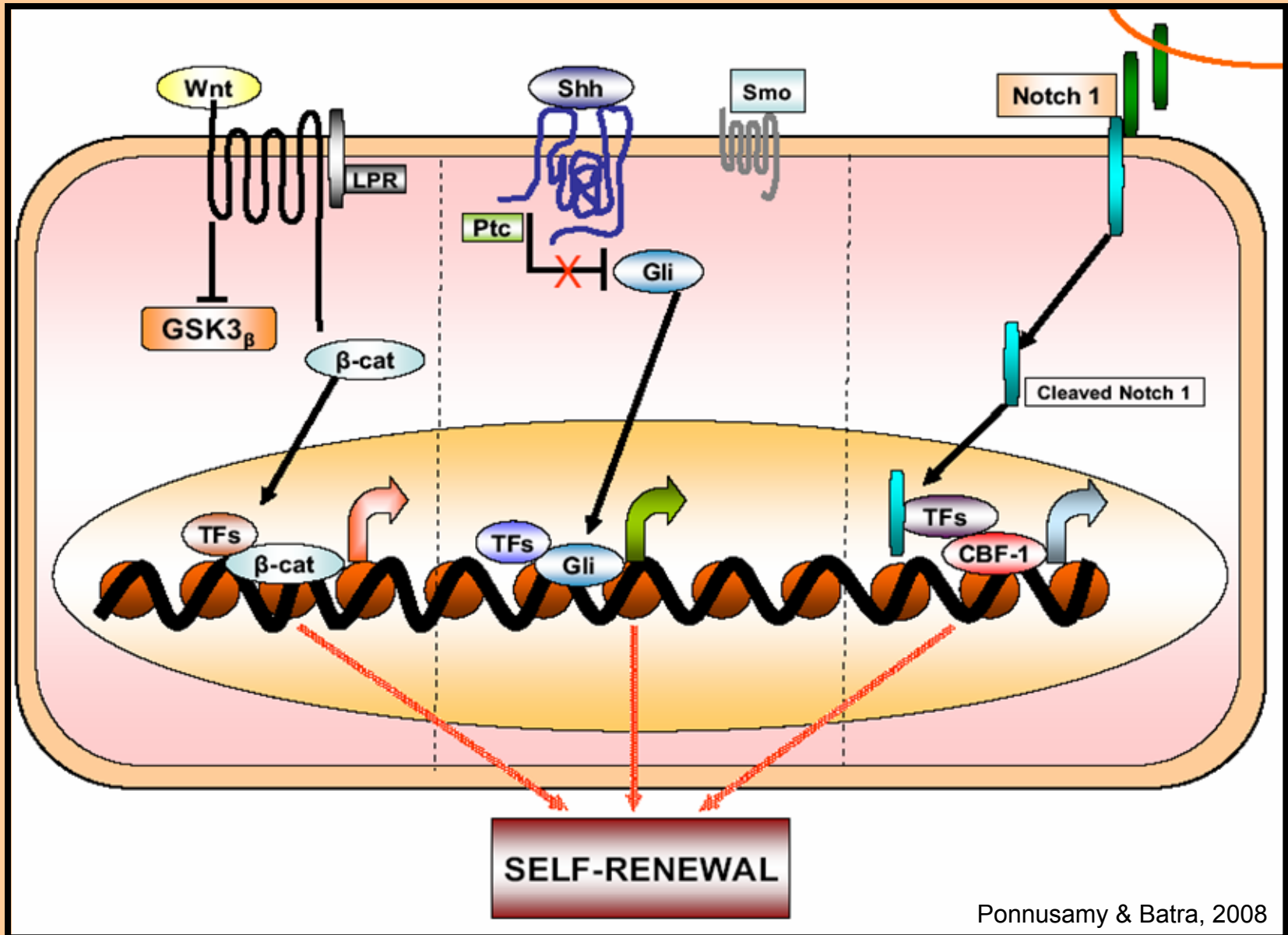
a Treatment with ionizing radiation



b Treatment with BMPs

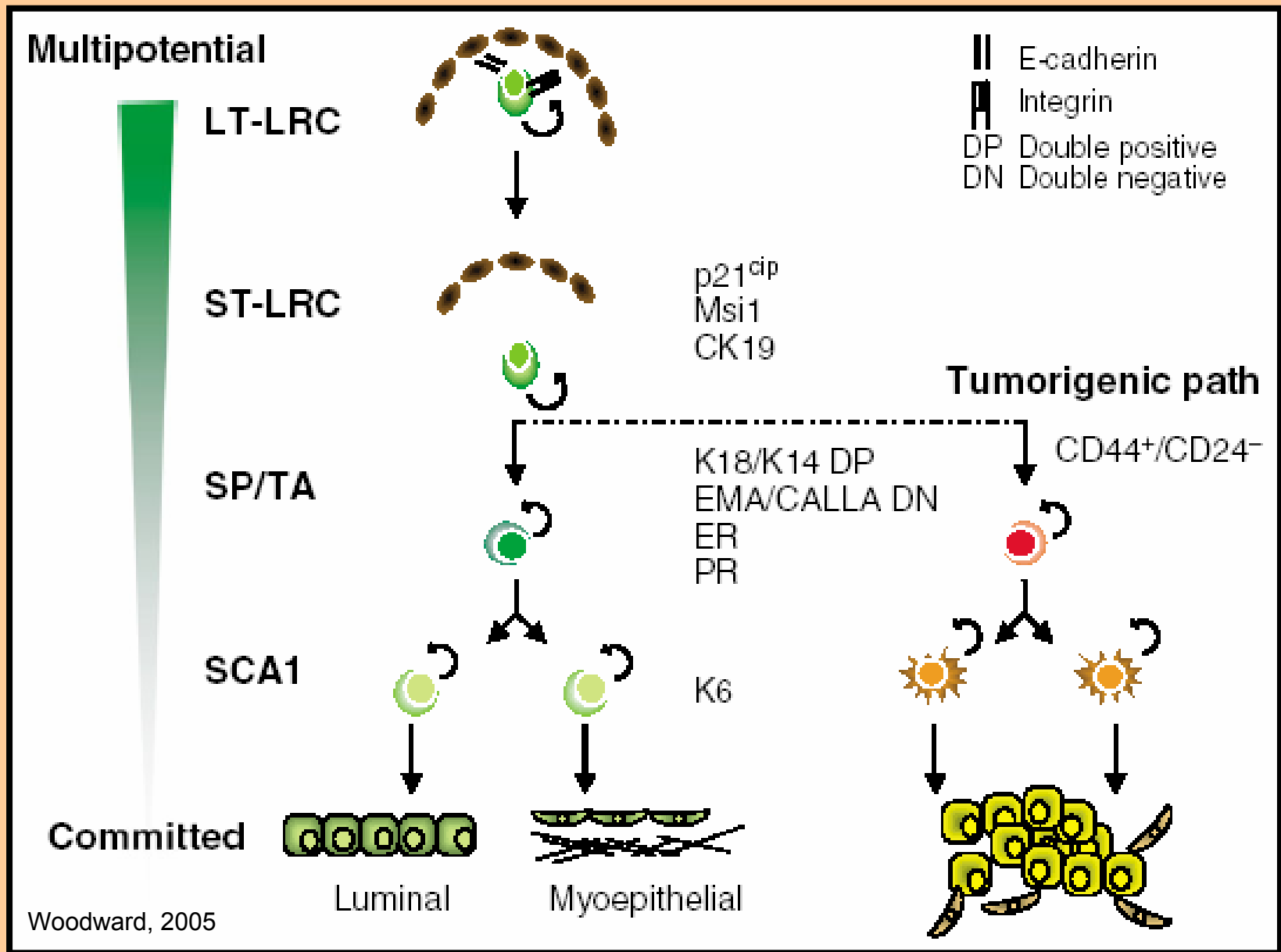


Signální dráhy jejichž poškození (mutace komponent) se podílí na vzniku nádorů nervového systému



SC a CSC mléčných žláz – MaSC a MaCSC (Mammary CSC)

- ❖ **MaSCs → SP populace Sca1⁺ a liniově negativních (B220⁻, Gr-1⁻, Mac-1⁻, CD4⁻, CD5⁻ a CD8⁻) buněk tvořících „mammosféry“ (podobně jako neurosféry obsahují jak SCs, tak množství progenitorů a diferencovanějších typů buněk)**
- ❖ **kmenové buňky mléčných žláz jsou schopné dát vznik prsní tkáni po transplantaci do vhodného prostředí z metastázuujících prsních nádorů byly izolovány buňky CD44⁺/CD24⁻, schopné tyto nádory vyvolávat po následné transplantaci, oproti 100 násobnému množství ostatních buněk izolovaných z takového nádoru**
- ❖ **pravděpodobně ne všechny CD44⁺/CD24⁻ mají potenciál CSC**
- ❖ **CD44⁺/CD24⁻ buňky nejsou také pravděpodobně odvozeny od MaSCs ale od TA**



LT-LCR (long term label retaining cell), ST-LRC (short term LRC), ER – receptor pro estrogen
 PR – receptor pro progesteron, CD24 – povrchový protein s GPI kotvou, CD44 (H-CAM)

Nádory a fenotyp jejich kmenových buněk

S. No	Cancer type	Markers for CSC population
1.	Brain Tumors	CD133 ⁺
2.	Breast Cancer	CD24 ^{-/low} /CD44 ⁺ /ESA ⁺
3.	Ovarian Cancer	CD133 ⁺ /Side population (SP)/CD44 ⁺ , CD117 ⁺
4.	Lung Cancer	CD133 ⁺
5.	Prostate Cancer	CD44 ⁺ /α2β1 ^{high} /CD133 ⁺
6.	Pancreatic Cancer	CD44 ⁺ /CD24 ⁺ /ESA/CD133 ⁺
7.	Hepatocellular Cancer	CD133 ⁺
8.	Hematological Malignancies	CD34 ⁺ /CD38 ⁻
9.	Colon Cancer	CD133 ⁺ /CD44 ⁺ /Lin ⁻ /ESA ⁺
10.	Head and Neck Cancer	CD44 ⁺

Fenotyp nádorových kmenových buněk a jejich zdravých ekvivalentů

<i>Organ</i>	<i>Cancer type</i>	<i>Normal stem cell markers</i>	<i>Cancer stem cell markers</i>
Hematopoietic	Leukemia	CD34 ⁺ CD38 ⁻ Thy1 ⁻ Lin ⁻	CD34 ⁺ CD38 ⁻ Thy1 ⁻ Lin ⁻
Breast	Mammary cancer	CD24 ^{med}	CD44 ⁺ CD24 ^{-low} ESA ⁺ Lin ⁻
Brain	Brain tumor	CD133 ⁺ Lin ⁻	CD133 ⁺ Nestin
Skin	Melanoma cancer	CD20 ⁻ CD166 ⁻ Nestin ⁻	CD20 ⁺ CD166 ⁺ Nestin ⁺
Prostate	Prostate cancer	CD133 ⁺ $\alpha_2\beta_1$ ^{hi}	CD44 ⁺ $\alpha_2\beta_1$ ^{hi} CD133 ⁺
Tongue, Larynx, Throat and Sinus	Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC)	CD44 ⁻	CD44 ⁺
Pancreas	Pancreatic cancer	CD24 ⁻ CD44 ⁻ ESA ⁻	CD24 ⁺ CD44 ⁺ ESA ⁺