

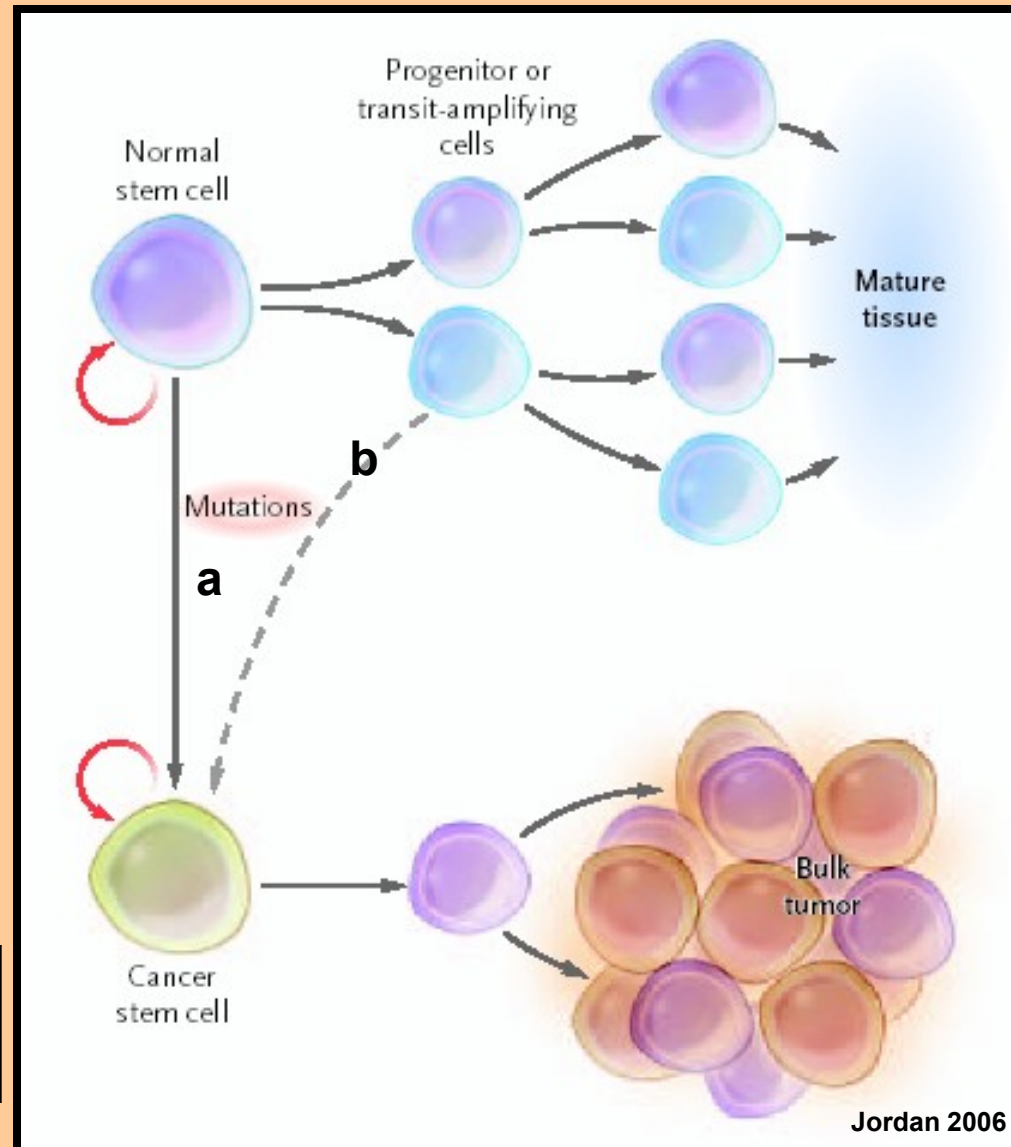
Nádorové kmenové buňky - CSCs (Cancer stem cells)

Původ CSCs ?

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

Podstatou je akumulace chyb v regulaci diferenciaci, proliferaci 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

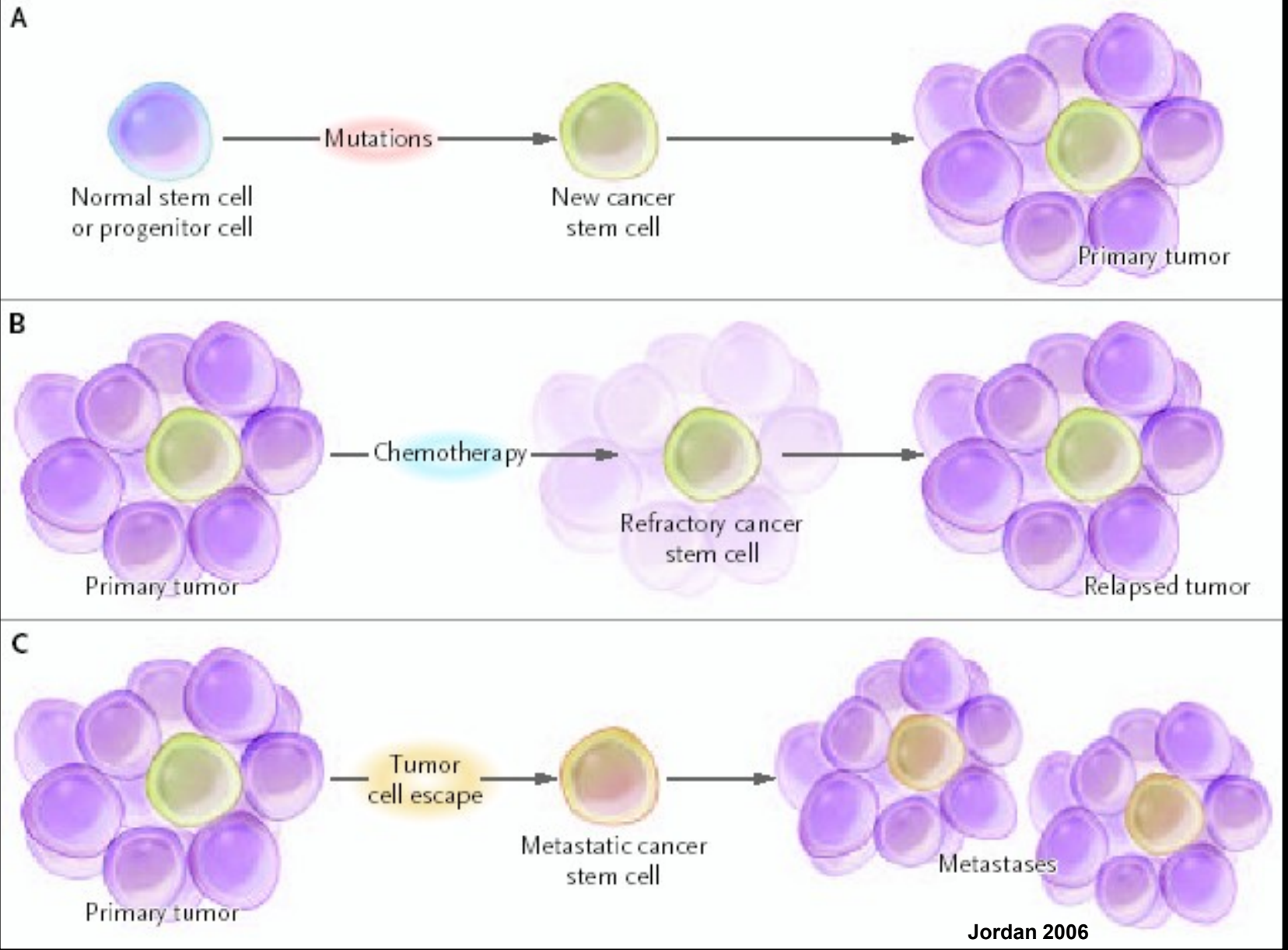
* Lze i experimentálně navodit zvýšením exprese oncogenů, např *ras* + *myc*.

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

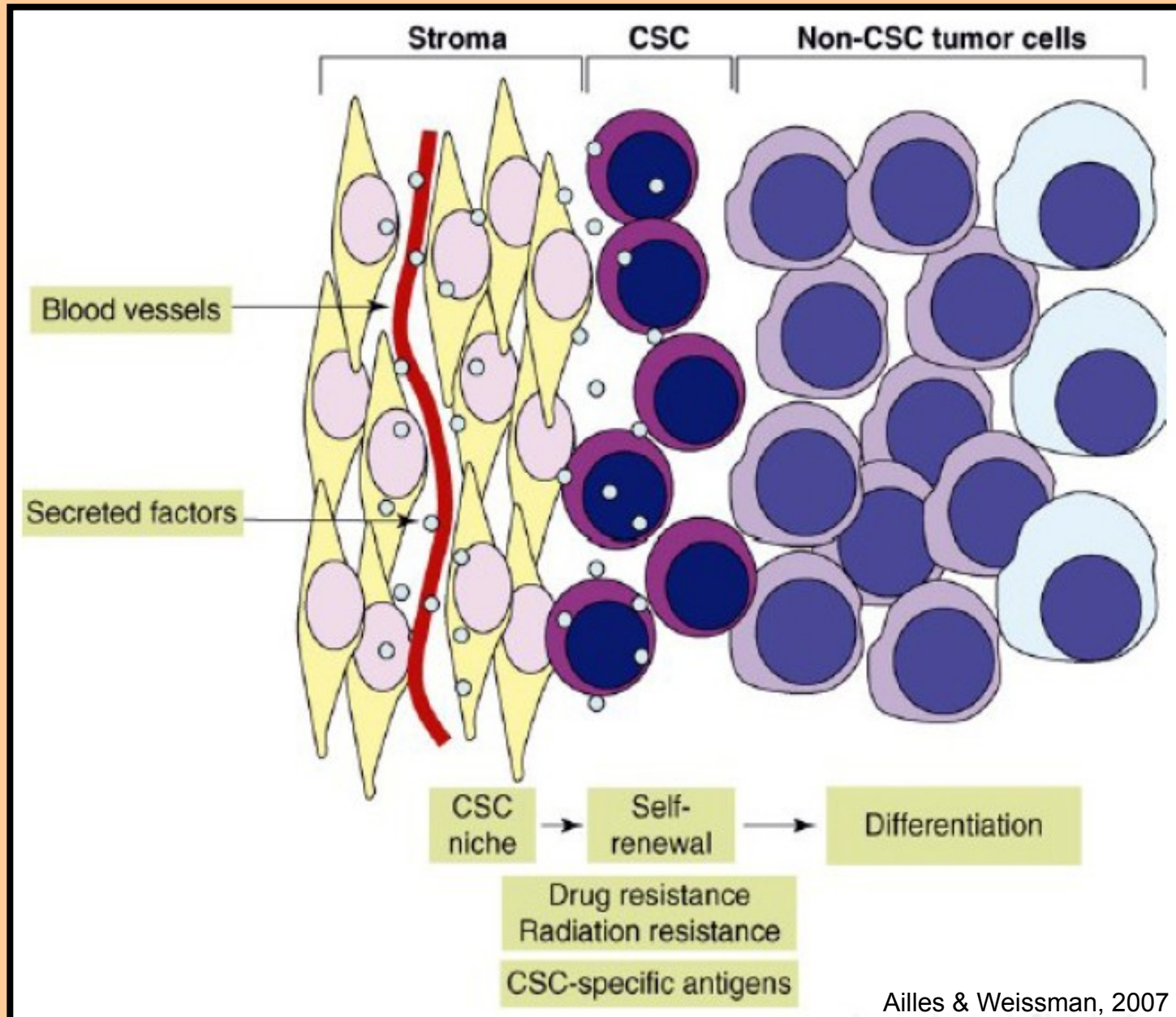
**CSCs podobně jako jiné SSC -> rezistence na toxické faktory (MDR proteiny)
-> pomalá proliferace (=>self-renewal) – in vivo**
(V současné době ale pochybnosti, CSC snad více připomínají embryonální SSC než adultní)

- ❖ **mají všechny nádory benigní/maligní/ metastázuující CSC?**
- ❖ **ne všechny buňky izolované z nádorů jsou schopny dát nádorům vzniknout => CSC**
- ❖ ***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 **jedinéčné vlastnosti!** (=> závislost na tom, co se pokazilo)**
- ❖ **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



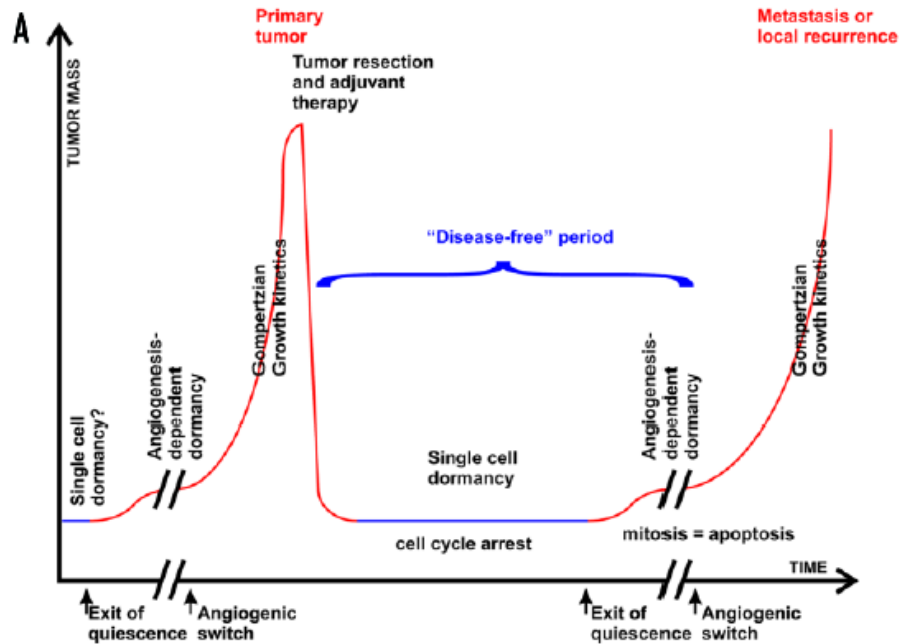
Stromální buňky niche CSC

- Podobně jako v „niche“ SSC, stromální buňky podporují produkci růstových faktorů a extracelulární matrix CSC v jejich niche
- Zdá se že velké riziko představují senescentní stromální buňky/fibroblasty, samy mají poškozené regulační mechanismy => špatná kooperace s prostředím (buňkami, tkání), s organismem => podpora nerovnováhy v regulaci homeostáze niche/SC => podpora CSC

⇒ Nejen změny na prekurzorech CSC a selhání imunitního systému, ale i změny v jejich potencionálních niche hrají významnou úlohu v progresi nádorového onemocnění

Model regulace tumorogeneze přesmykem aktivity MAPK Erk a p38

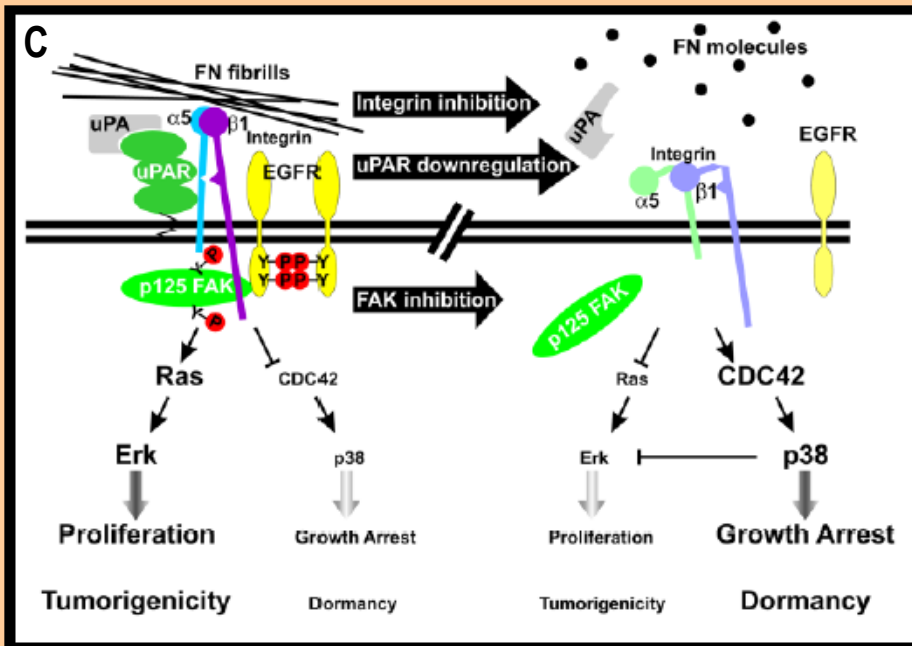
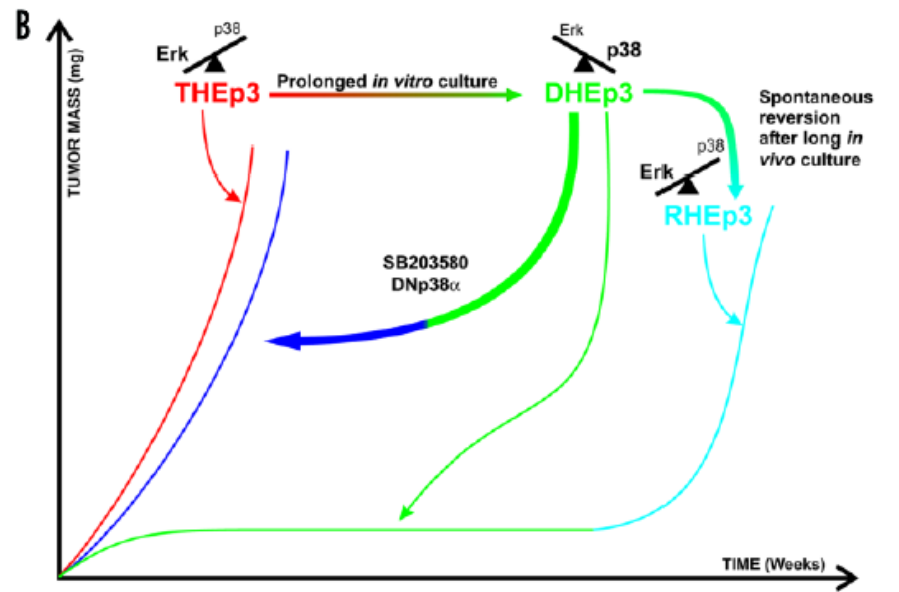
Ranganathan 2006



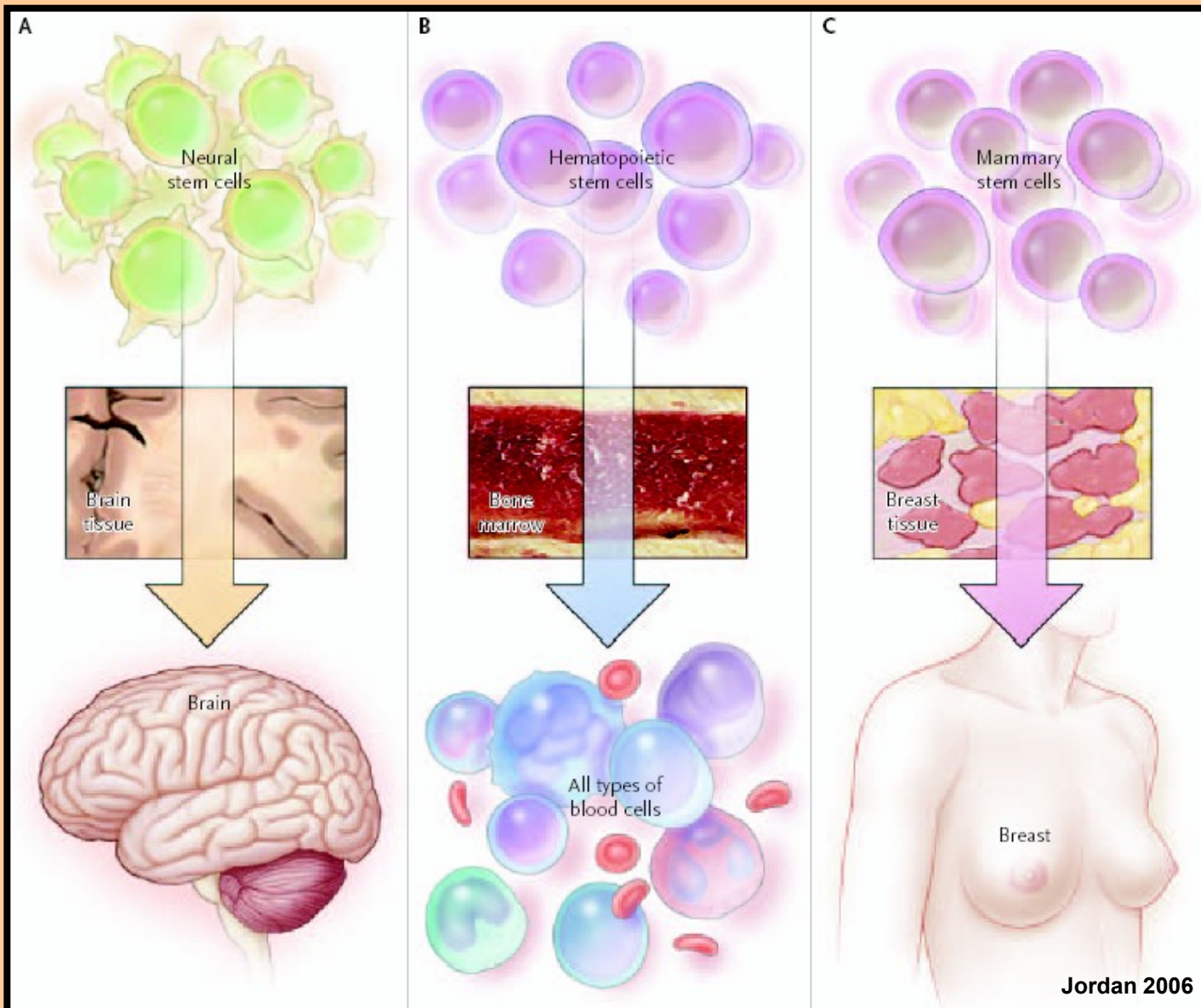
A – znázornění progresu nádoru u pacienta

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

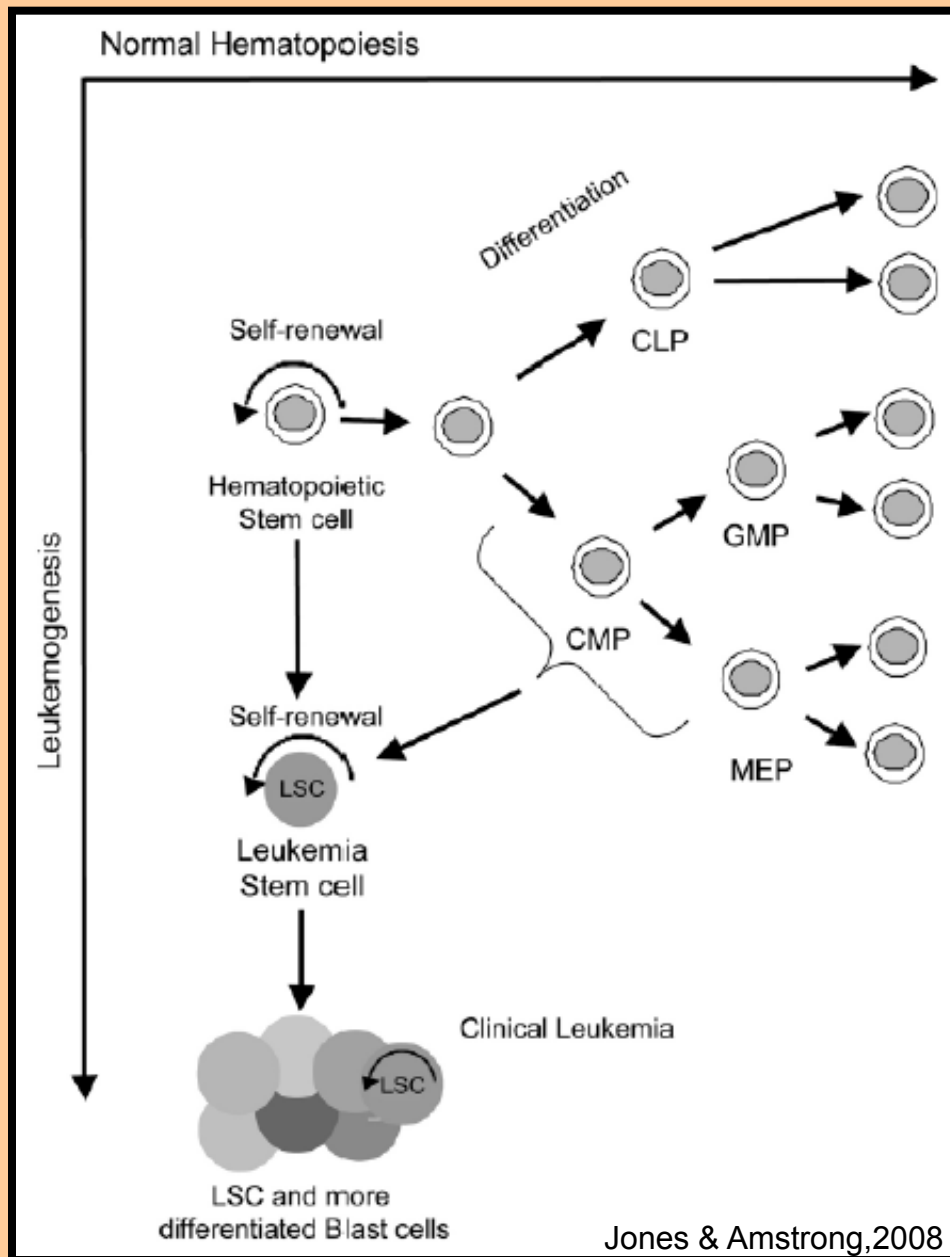
C – mechanismus aktivace Erk a p38



**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)

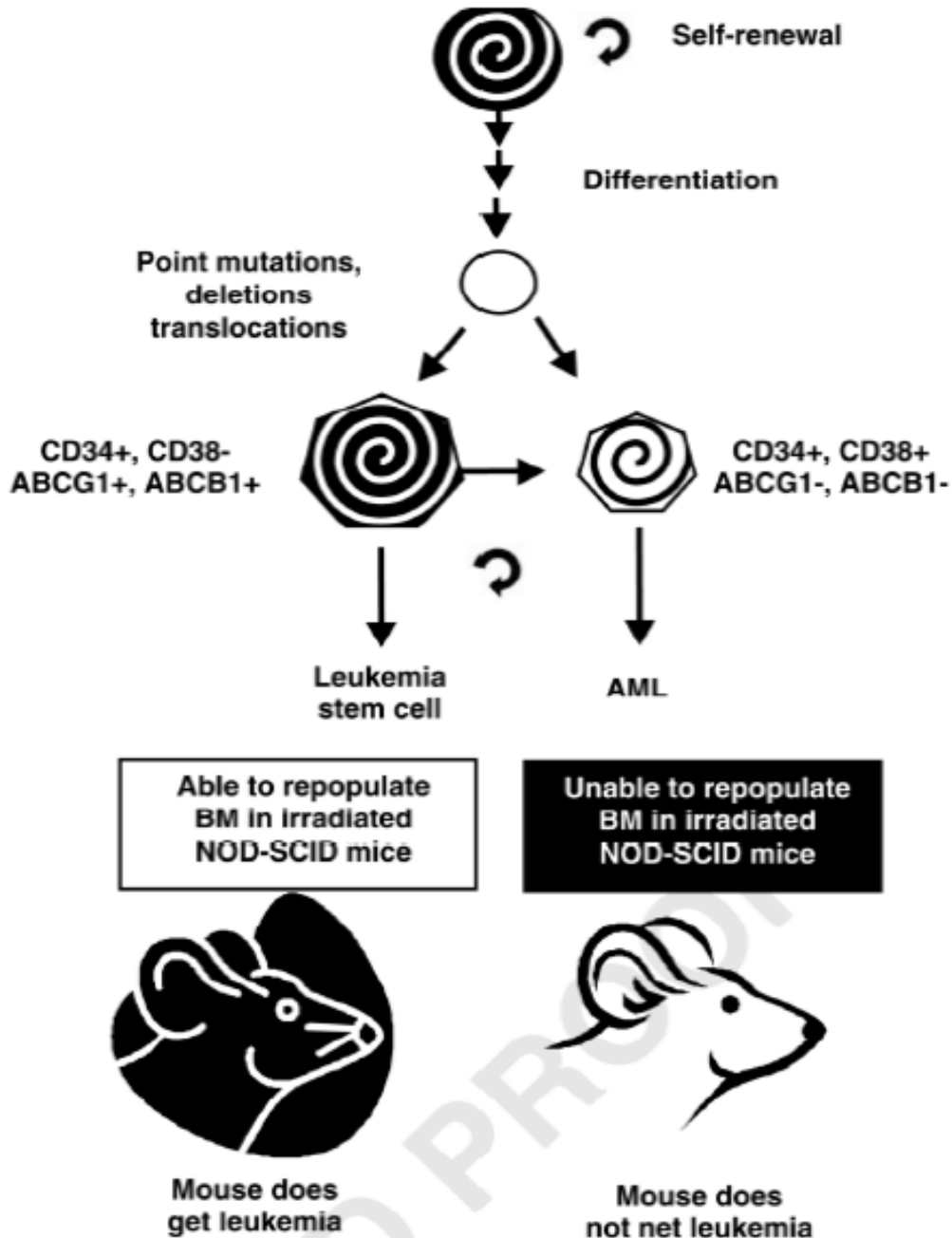
- CD33 se zdá být vhodným pro rozpoznání AML CSCs (imunoterapie), navíc byl prokázán u některých dalších leukemických CSCs.

- 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

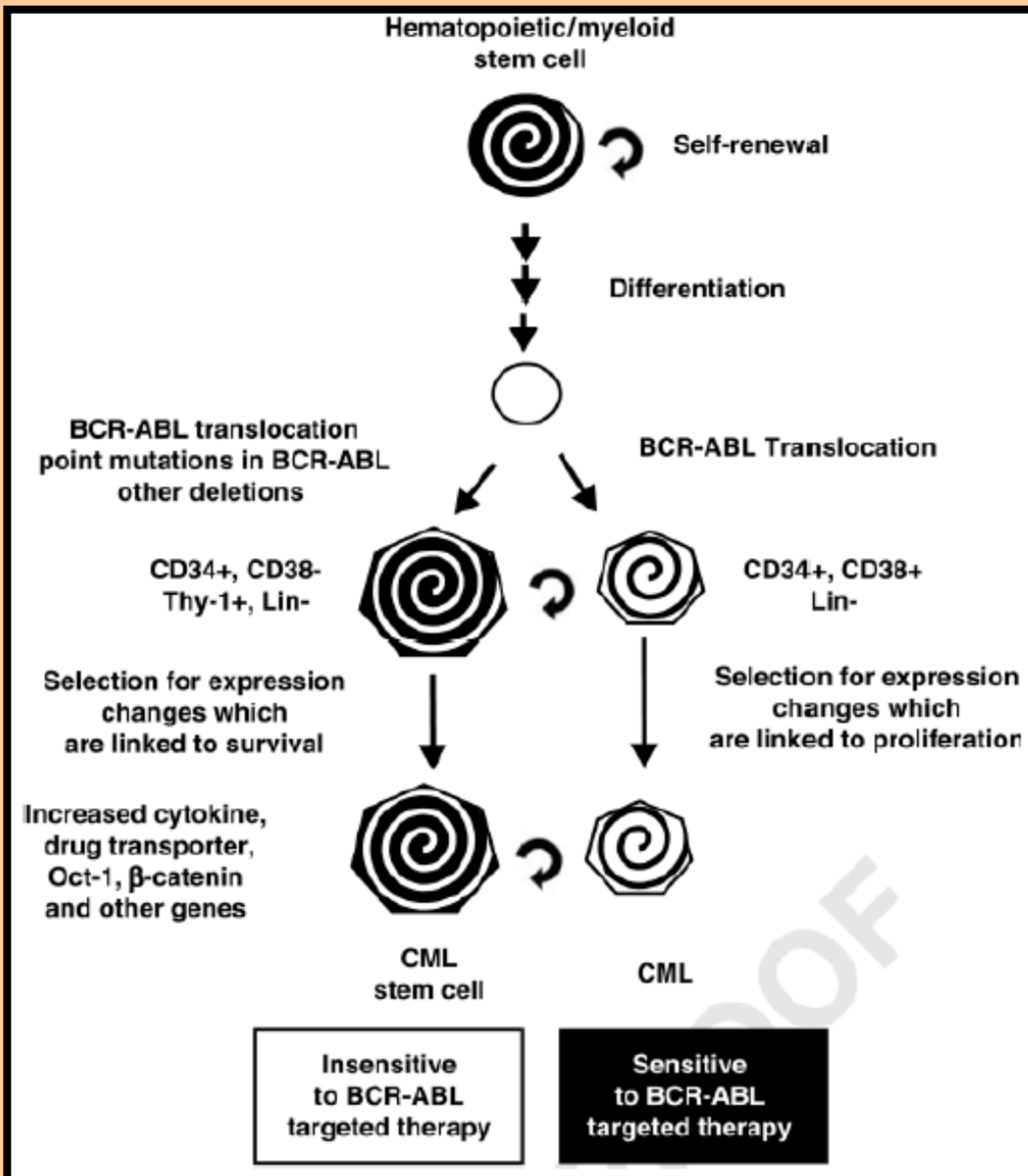
Kmenové buňky akutní myeloidní leukémie



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

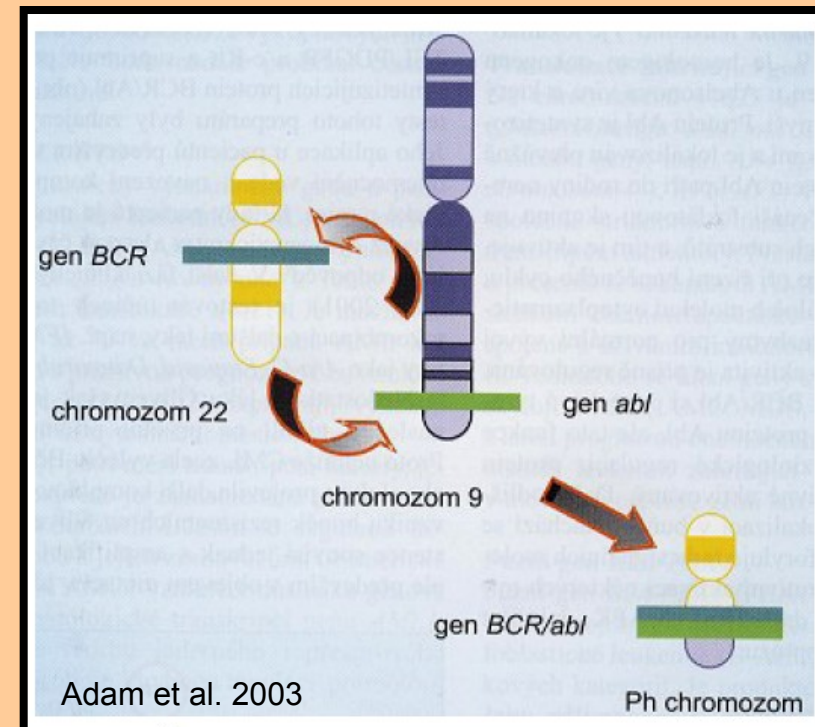
Kmenové buňky chronické myeloidní leukémie

- 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

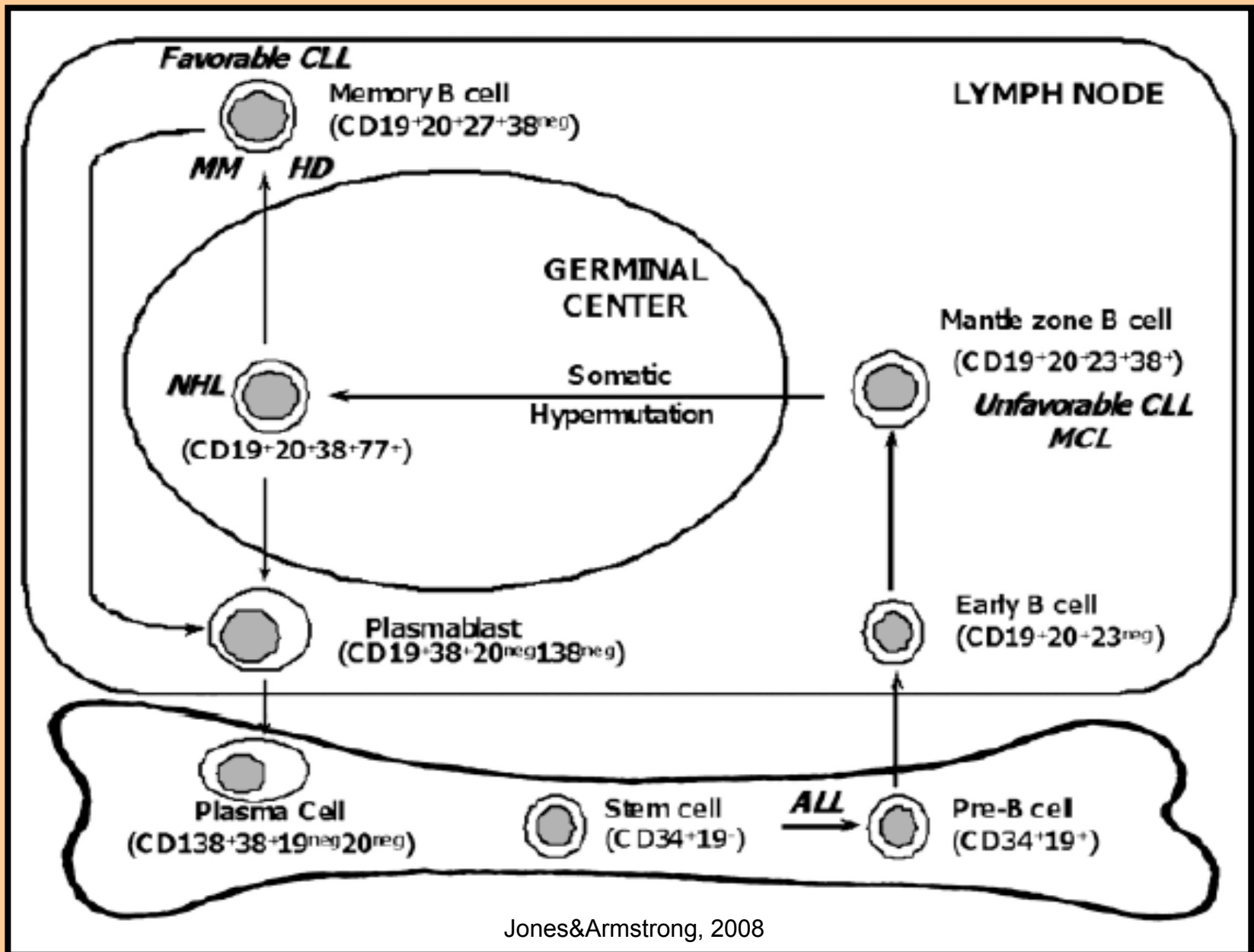
Chronická lymfoidní leukémie – CLL

- 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

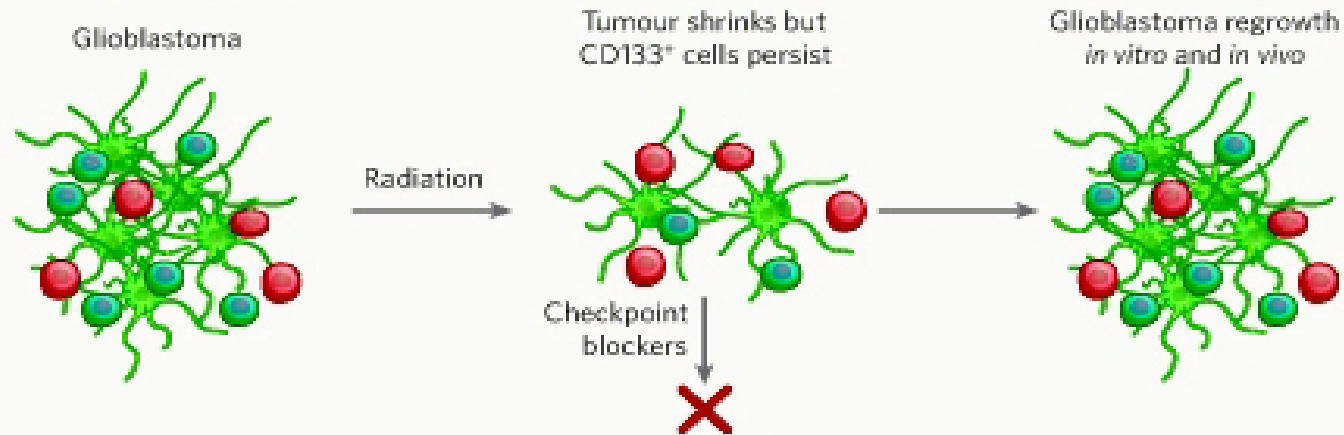


Neurální CSC - NCSC

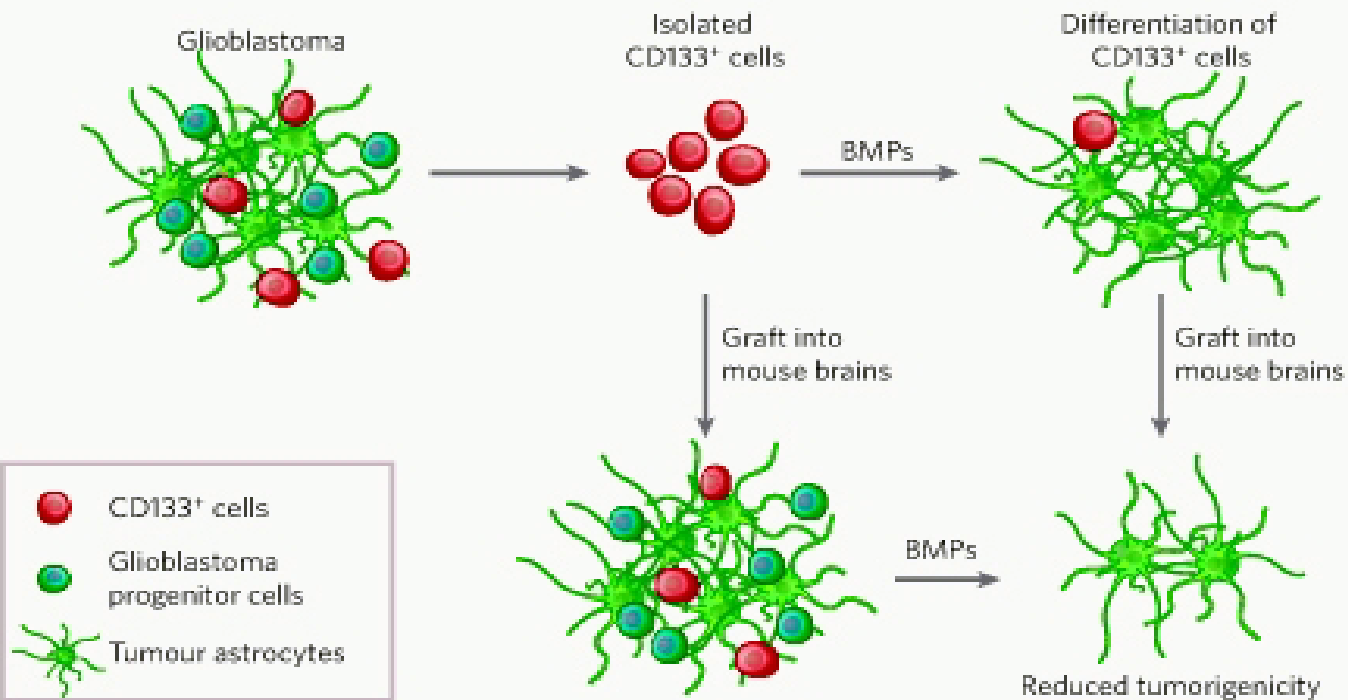
- ❖ neurální CSCs vytvářejí (v kultuře) podobně jako NSCs sférické plovoucí útvary (= neurosféry)
- ❖ neurosféry mohou být rozsuspendovány na jednotlivé buňky, z nichž některé jsou multipotentní a jsou schopné vytvořit novou neurosféru, případně dávat vznik všem známým skupinám neurálních buněk (neurony + 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

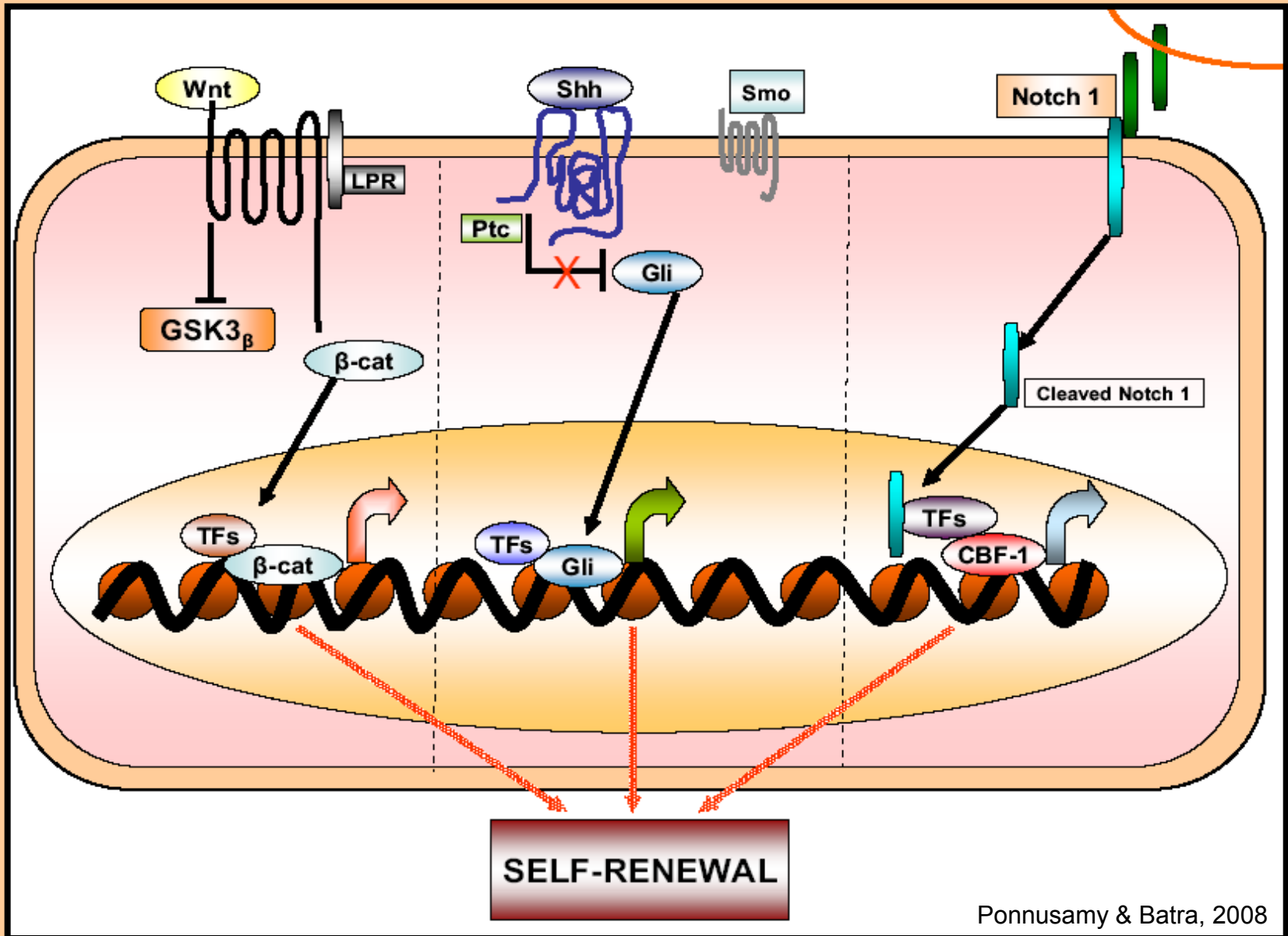
a Treatment with ionizing radiation



b Treatment with BMPs



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



WHO klasifikace nádorů CNS

NÁDORY NEUROEPITELIÁLNEHO PŮVODU

I. st.

II. st.

III. st.

IV. st.

a
g
r
e
s
i
v
i
t
a

TUMOURS OF NEUROEPITHELIAL TISSUE

Astrocytic tumours

Pilocytic astrocytoma	9421/1 ¹
Pilomyxoid astrocytoma	9425/3*
Subependymal giant cell astrocytoma	9384/1
Pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3
Diffuse astrocytoma	9400/3
Fibrillary astrocytoma	9420/3
Gemistocytic astrocytoma	9411/3
Protoplasmic astrocytoma	9410/3
Anaplastic astrocytoma	9401/3
Glioblastoma	9440/3
Giant cell glioblastoma	9441/3
Gliosarcoma	9442/3
Gliomatosis cerebri	9381/3

Oligodendroglial tumours

Oligodendroglioma	9450/3
Anaplastic oligodendroglioma	9451/3

Oligoastrocytic tumours

Oligoastrocytoma	9382/3
Anaplastic oligoastrocytoma	9382/3

Ependymal tumours

Subependymoma	9383/1
Myxopapillary ependymoma	9394/1
Ependymoma	9391/3
Cellular	9391/3
Papillary	9393/3
Clear cell	9391/3
Tanycytic	9391/3
Anaplastic ependymoma	9392/3

Choroid plexus tumours

Choroid plexus papilloma	9390/0
Atypical choroid plexus papilloma	9390/1*
Choroid plexus carcinoma	9390/3

Other neuroepithelial tumours

Astroblastoma	9430/3
Chordoid glioma of the third ventricle	9444/1
Angiocentric glioma	9431/1*

Neuronal and mixed neuronal-glia tumours

Dysplastic gangliocytoma of cerebellum (Lhermitte-Duclos)	9493/0
Desmoplastic infantile astrocytoma/ganglioglioma	9412/1
Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	9413/0
Gangliocytoma	9492/0
Ganglioglioma	9505/1
Anaplastic ganglioglioma	9505/3
Central neurocytoma	9506/1
Extraventricular neurocytoma	9506/1*
Cerebellar liponeurocytoma	9506/1*
Papillary glioneuronal tumour	9509/1*
Rosette-forming glioneuronal tumour of the fourth ventricle	9509/1*
Paraganglioma	8680/1

Tumours of the pineal region

Pineocytoma	9361/1
Pineal parenchymal tumour of intermediate differentiation	9362/3
Pineoblastoma	9362/3
Papillary tumour of the pineal region	9395/3*

Embryonal tumours

Medulloblastoma	9470/3
Desmoplastic/nodular medulloblastoma	9471/3
Medulloblastoma with extensive nodularity	9471/3*
Anaplastic medulloblastoma	9474/3*
Large cell medulloblastoma	9474/3
CNS primitive neuroectodermal tumour	9473/3
CNS Neuroblastoma	9500/3
CNS Ganglioneuroblastoma	9490/3
Medulloepithelioma	9501/3
Ependymblastoma	9392/3
Atypical teratoid / rhabdoid tumour	9508/3

TUMOURS OF CRANIAL AND PARASPINAL NERVES

Schwannoma (neurilemoma, neurinoma)	9560/0
Cellular	9560/0
Plexiform	9560/0
Melanotic	9560/0

Neurofibroma	9540/0
Plexiform	9550/0

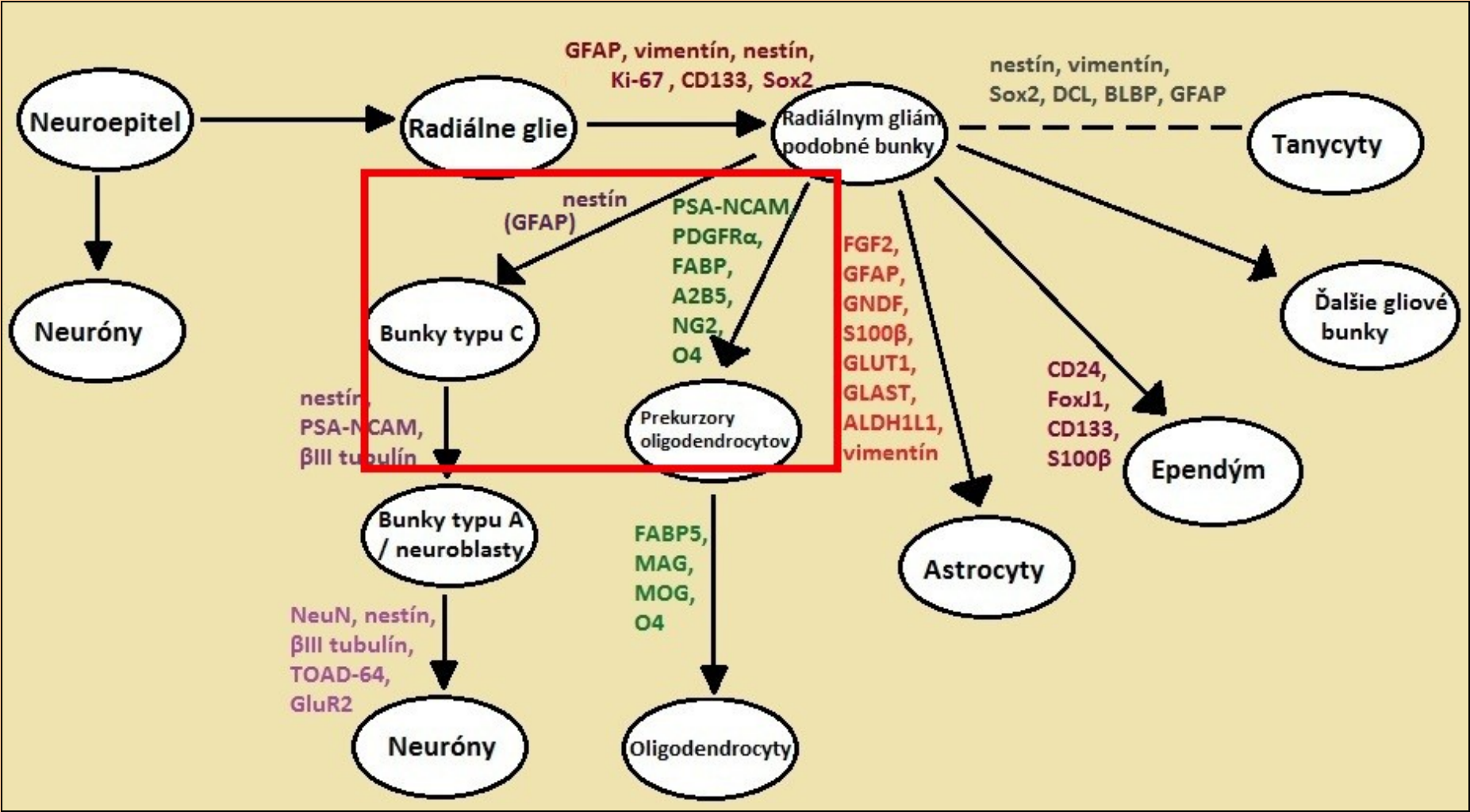
¹ Morphology code of the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) (B14A) and the Systematized Nomenclature of Medicine (<http://snomed.org>). Behaviour is coded /0 for benign tumours, /3 for malignant tumours and /1 for borderline or uncertain behaviour.

* The italicised numbers are provisional codes proposed for the 4th edition of ICD-O. While they are expected to be incorporated into the next ICD-O edition, they currently remain subject to change.

Blízke fenotypy CSC neuroepiteliálných nádorů

I. st. : pilocytický astrocytom

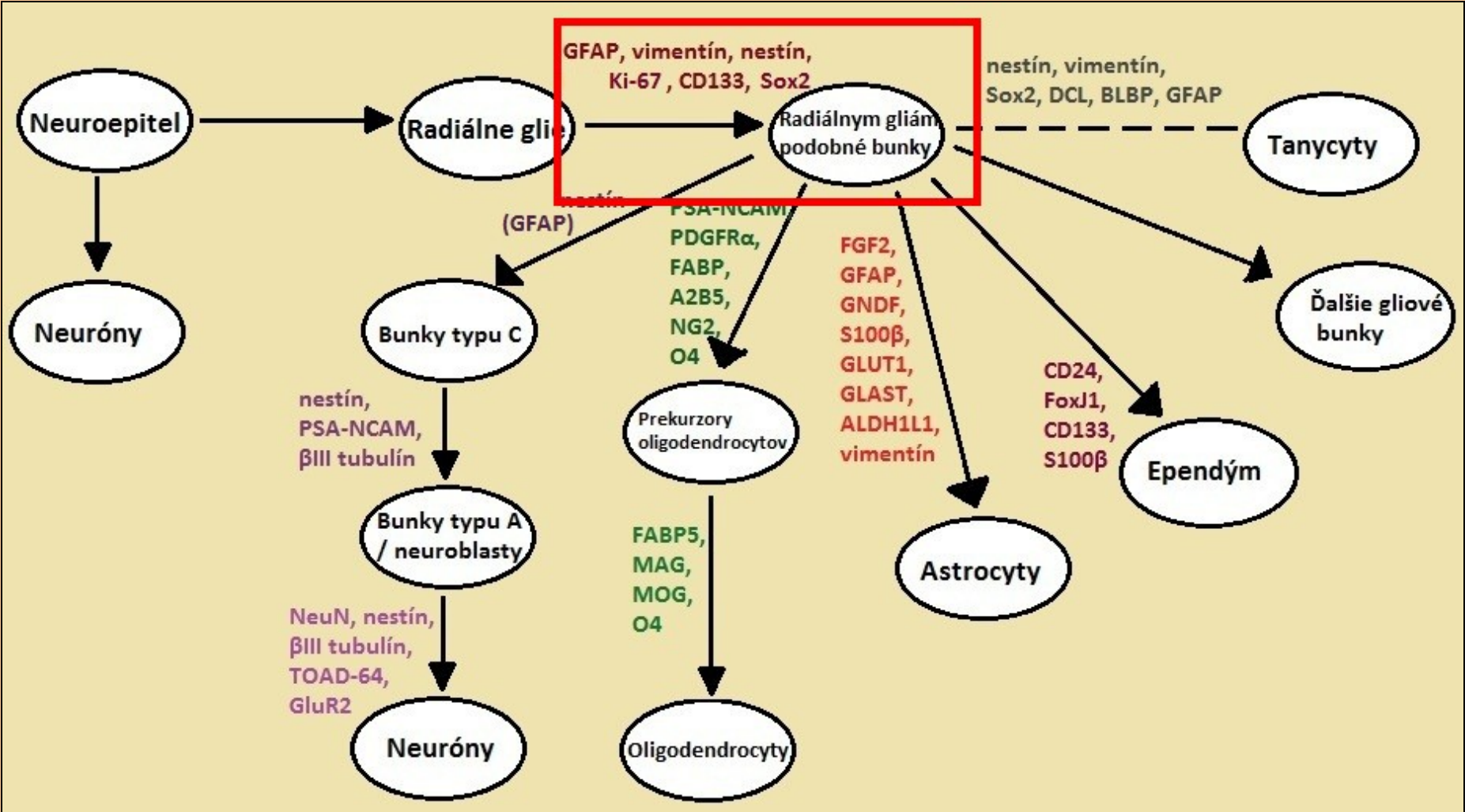
II. st. : difúzní astrocytom, oligodendrocytom



Blízke fenotypy CSC neuroepiteliálných nádorů

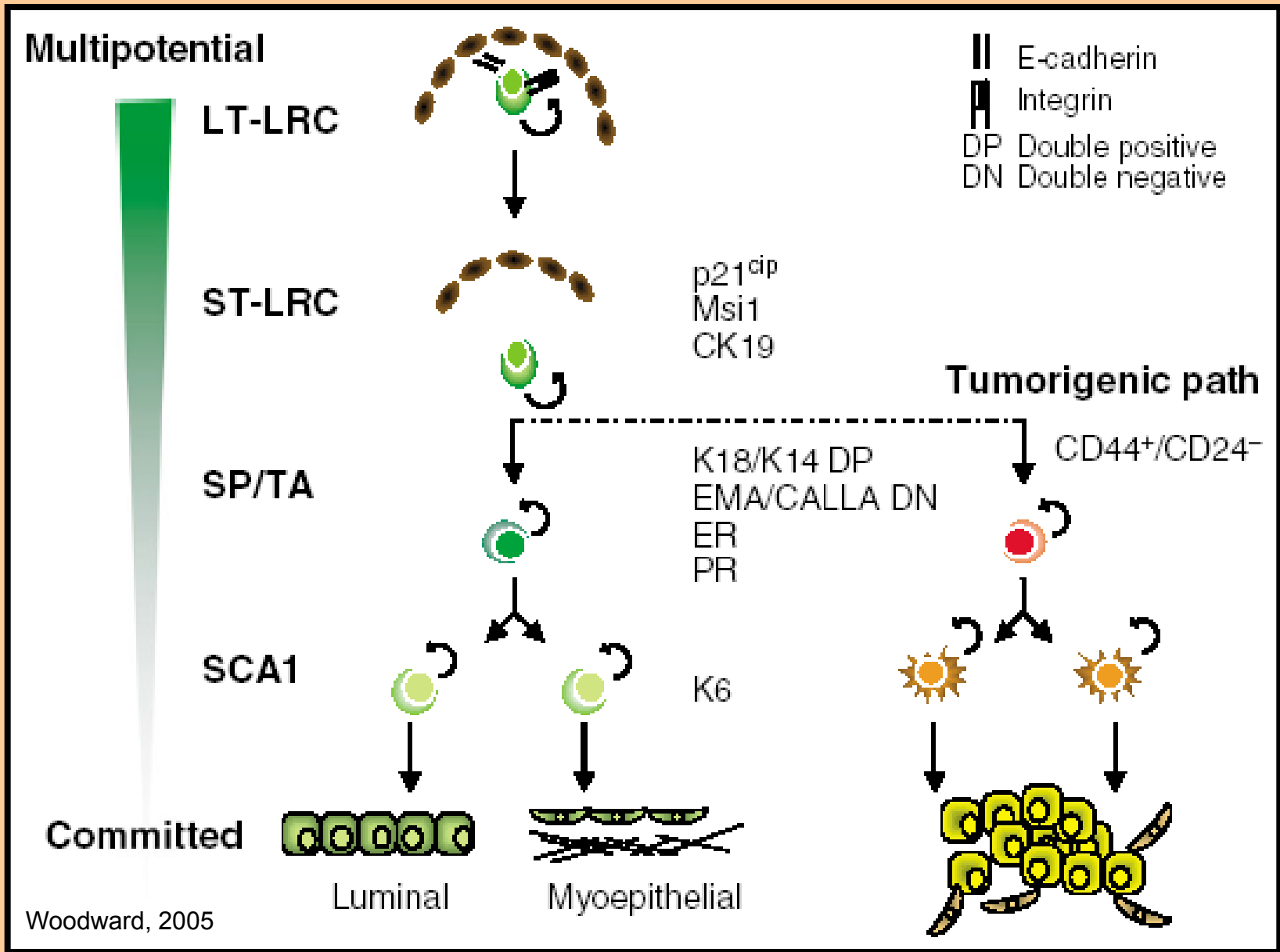
III. st. : anaplastický astrocytom, ependymom

IV. st. : glioblastoma multiforme, meduloblastom, neuroblastom



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 ⁺ $\alpha_2\beta_1^{\text{H}}$	CD44 ⁺ $\alpha_2\beta_1^{\text{H}}$ CD133 ⁺
Tongue, Larynx, Throat and Sinus	Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC)	CD44 ⁻	CD44 ⁺
Pancreas	Pancreatic cancer	CD24 ⁻ CD44 ⁻ ESA ⁻	CD24 ⁺ CD44 ⁺ ESA ⁺