

„Nikt, nawet pod groźbą tortur, nie mógłby powiedzieć, czym jest właściwie komórka nowotworowa”

Rudolf Virchow

Udział komórek macierzystych w strukturze nowotworowej

JANUSZ A. MADEJ

Katedra Anatomii Patologicznej, Patofizjologii, Mikrobiologii i Weterynarii Sądowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Madej J. A.

Role of stem cells in tumor structure

Summary

The probable role of stem cells has been presented in the development of tumors. It has been stressed that in contrast to immature, capable of proliferation and undifferentiated cells, the mature cells are unable to yield a neoplastic clone. The existence of cell clones or subclones determines the extent of differentiation in tumor cells and, thus, results in the heterogeneity of the tumor. Biological activity of such tumors involves production of several substances which negatively affect the organism of the host.

Keywords: stem cells, tumor

Organizm ssaków zbudowany jest z ok. 200 różnych fenotypowo rodzajów komórek, niemniej wszystkie z nich mają identyczny materiał genetyczny (4). Powstanie fenotypów komórek różnych od wyjściowych struktur komórek rodzicielskich zdeterminowane jest ekspresją genów oraz sygnałami, które kontrolują czynność genów lub ich zespołów podlegających takiej ekspresji. Wśród nich są różne komórki macierzyste (cloning stem cells, clonogenic cells) i prekursorowe krwi oraz układu immunologicznego (7). Komórki macierzyste są samoodnawialne i mogą różnicować się w wiele rodzajów komórek, przy czym potencjał do różnicowania tych komórek jest różny. Wyróżnia się zatem komórki macierzyste totipotencjalne (zygota), pluripotencjalne (blastocysta), multipotencjalne (ekto-, mezo- i endodermalne) i komórki unipotencjalne (ukierunkowane tkankowo komórki macierzyste, np. krew, naskórek) (17). Komórki unipotencjalne spotyka się tylko u osobników dorosłych, chociaż przypuszcza się, że oprócz nich istnieją także komórki pluri/multipotencjalne (18).

Komórki macierzyste mają nieograniczoną zdolność do dzielenia się i stąd uważa się je za komórki nieśmiertelne (immortalize). Ich podział następuje głównie poprzez aktywację białka p34, czyli kinazy białkowej – cdk fazy S (cyclin dependent kinase) i polega na połączeniu tego enzymu z cykliną fazy S i jej fosforylacji, co inicjuje syntezę DNA (faza S). Wynikiem

tej reakcji jest wydłużenie cząsteczek DNA z 2 do ok. 4 m. Następnie pod wpływem cdk fazy M, czyli MPF (M – phase factor – czynnik fazy M), komórka wchodzi w mitozę (11, 14). Proliferację komórek macierzystych można zahamować, np. związkami antymitotycznymi lub wysokimi dawkami promieniowania jonizującego.

Zauważono, że czynniki kancerogenne, np. czynniki fizyczne mogą uszkadzać komórki macierzyste cyklu komórkowego, które są w fazie bardzo wrażliwej na ich działanie, tj. w fazie syntezy DNA i mitozy (3). Z komórki macierzystej po podziale powstaje jedna komórka macierzysta i jedna komórka różnicująca się (podział asymetryczny) lub, dużo rzadziej, dwie takie same komórki macierzyste (podział symetryczny) (6). Niezróżnicowanie niektórych form komórek macierzystych i ich zdolność do proliferacji powoduje, że wiele nieprawidłowości w ich funkcjonowaniu prowadzi do nowotworzenia. Czasem komórki macierzyste, jak już wyżej wspomniano, dzielą się asymetrycznie i wówczas zmienione patologicznie składniki komórki są przekazywane komórkom potomnym, które później ulegają różnicowaniu, natomiast komórki macierzyste potomne mają cytoplazmę wolną od związków nieprawidłowych (10). Należy także wspomnieć o tym, że populacje komórek pochodzące od osobników starych wyraźnie częściej ulegają spontanicznej transformacji nowotworowej niż od osobników młodych, jak

również są bardziej podatne na działanie kancerogenów. Cykl mitotyczny komórek nowotworów złośliwych jest czasowo taki sam lub podobny jak komórek nienowotworowych (faza S, G i M), zmienna natomiast jest faza G1.

Komórki macierzyste embrionalne hodowane *in vitro* różnicują się teoretycznie we wszystkie typy komórek somatycznych, w tym w komórki nowotworowe (2). Wykazano bowiem, że komórki te mogą ulec zmianom zarówno genetycznym, jak i kariotypowym, co wskazuje na transformację spowodowaną niestabilnością ich genomu (5). Zauważono ponadto, że wszczepienie podskórne komórek macierzystych zarodkowych prowadzi u myszy do powstania potworniaka (*teratoma*). Nie musi to przemawiać za tym, że komórki te mają zdolność do nowotworzenia, a świadczy jedynie o zdolności tych komórek do wielokierunkowego różnicowania. Potwierdzeniem takiego rozumowania jest fakt, że po przeszczepie komórek zarodka, nie zaś komórek macierzystych w nietypowe miejsce, także powstaje potworniak (12). Stąd przypuszcza się, że zarówno komórki macierzyste zarodkowe, jak i somatyczne mogą czasem ulec transformacji nowotworowej.

Komórki mniej zróżnicowane, z których zbudowane są nowotwory złośliwe, nie powstają z komórek dojrzałych w wyniku ich odróżnicowania, lecz przypuszcza się, że źródłem ich są rezerwowe, nisko zróżnicowane komórki macierzyste obecne w niektórych tkankach i służące w warunkach fizjologicznych do odbudowy tkanki, tzw. komórki kambialne (15). Proliferyują one w czasie regeneracji, ale przy niewielkich nawet błędach w regulacji tego procesu mogą ulec transformacji nowotworowej. Przedstawiają wówczas obraz pewnego rodzaju blastoidalnej formy „regeneracji” tkanki o niskim stopniu różnicowania, a więc nowotwór złośliwy jest swoistą „blastemą regeneracyjną” (8). Stąd te tkanki, które fizjologicznie szybko regenerują, najczęściej ulegają nowotworzeniu, a powodem tego jest fakt, że wszystkie komórki są w cyklu mitotycznym i liczba ich wzrasta wg równania: $y = cxt$, gdzie y – liczba komórek powstających w czasie t , x – względna liczba komórek powstających w jednostce czasu i c – podstawa logarytmu naturalnego (6). Cały wydatek energetyczny komórek idzie na rozplem i nie starcza go już na różnicowanie się ich, co ma szczególne miejsce w nowotworach złośliwych. Morfologicznie manifestuje się to zaburzeniami rytmu dobowego mitoz i syntezy DNA. I tak w wielu nowotworach szczyt mitoz występuje w późnych godzinach popołudniowych, a więc o kilka godzin wcześniej niż w komórkach prawidłowych, bez jednoczesnego różnicowania się komórek (8). Ponadto, co zauważono w guzach przeszczepialnych u zwierząt, są dwa szczyty mitoz w ciągu doby, jeden wcześniej rano i drugi w późnych godzinach wieczornych, co ma świadczyć dodatkowo o złośliwości tych nowotworów (15).

Reasumując można stwierdzić, że komórki dojrzałe nie powodują wzrostu nowotworowego, dają go natomiast komórki niedojrzałe zdolne do proliferacji i to będące jeszcze w stanie nie zróżnicowania.

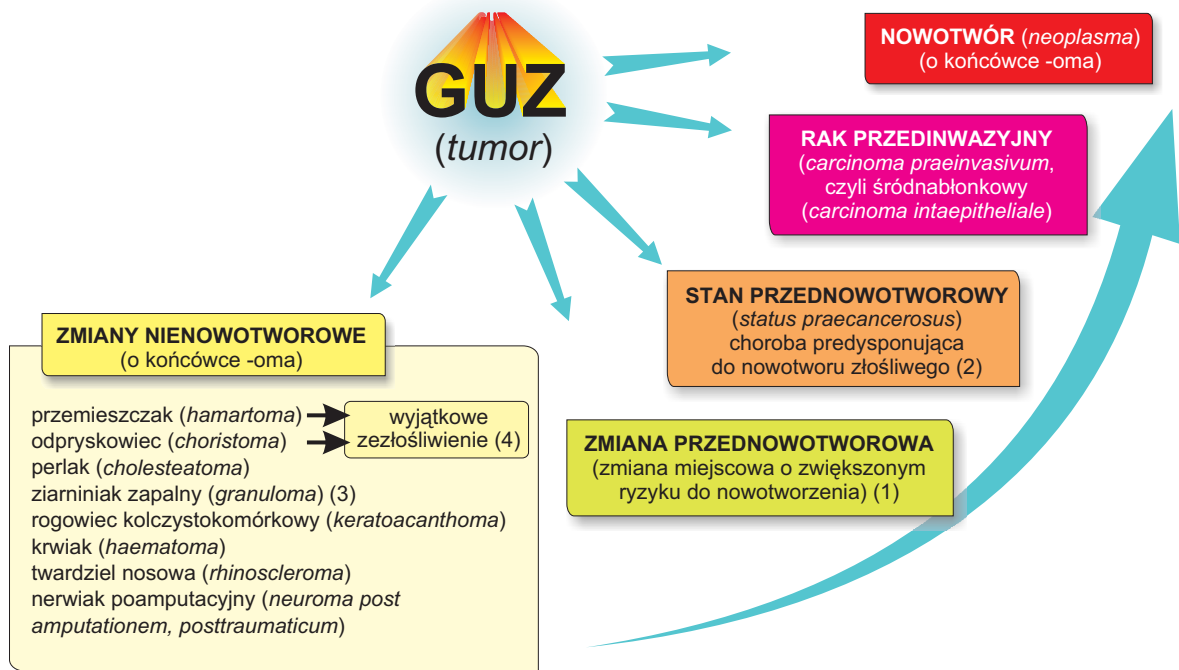
Nowotwór powstaje z reguły z pojedynczej, zmiennej komórki nowotworowej (7). Już pierwsza zmiana genetyczna sprzyjająca np. proliferacji, daje początek następnemu klonowi komórek nowotworowych o mniejszej niż poprzednio zdolności do odbierania sygnałów regulacyjnych. Z kolei w komórce pochodzącej z tego wtórnego klonu może powstać następna mutacja i tworzy się klon jeszcze bardziej niezależny, nie odpowiadający na sygnały od komórek prawidłowych (7). Taki proces powtarza się 4-5 razy i nosi miano progresji, czyli złośliwienia nowotworu. Kolejno postępujące po sobie mutacje są powodem zmian fenotypowych komórki nowotworowej, np. zdolności tych komórek do przerzutowania czy pojawienia się oporności na cytostatyki. Identyczność genetyczną komórek nowotworowych nazywa się klonalnością. Markerami klonalności np. w białaczkach i chłoniakach są translokacje chromosomów Philadelphia t (9 : 22) czy translokacje 8 : 14, 8 : 22 i 8 : 2 w chłoniakach Burkitta u ludzi (7). Klonalny charakter rozwoju nowotworu najdokładniej poznano na przykładzie raka okrężnicy u ludzi, u których wykazano, że prawdopodobieństwo tego nowotworu u osoby z wrodzonym uszkodzeniem któregoś z genów, np. APC (adenomatous polyposis coli – gruczolakowata polipowatość jelita grubego), jest większe, gdyż wystarczą już 3 mutacje, a nie 4 jak u osobników bez uszkodzenia genu (17). Do grupy genów, których mutacje prowadzą do nowotworzenia, należą geny naprawy DNA (ligazy DNA, topoizomery), geny supresorowe regulujące cykl komórkowy i protoonkogeny, zmutowanie których w sposób niekontrolowany zwiększa aktywność białek.

Podsumowując można powiedzieć, że nowotwór jest przykładem zarówno nieprawidłowości w zakresie różnicowania, jak i dojrzewania komórek. Sam zaś proces przekształcenia się komórek prawidłowych w nowotworowe określa się mianem transformacji nowotworowej, czyli „przyspieszenia blastycznego” (akceleracji) (14).

Ciekawą rolę w cyklu komórkowym spełnia faza G0, czyli stan spoczynkowy komórki, często obserwowany w nowotworach. W tym czasie komórki są niewrażliwe na cytostatyki, natomiast eliminowane są komórki będące w cyklu. Właśnie te pozostawione komórki w fazie G0 są źródłem odnowy nowotworowej (8).

Powstanie struktury nowotworowej manifestuje się najczęściej obecnością guza (*tumor*), który należy odróżnić od wielu innych nienowotworowych zmian guzowatych (ryc. 1).

Rozwój nowotworu uzależniony jest wyłącznie od rozplem komórek nowotworowych, nie zaś jego podścieliska, niemniej zrab nowotworu spełnia istotną rolę w zrozumieniu, w jakiej mierze przekształca się on



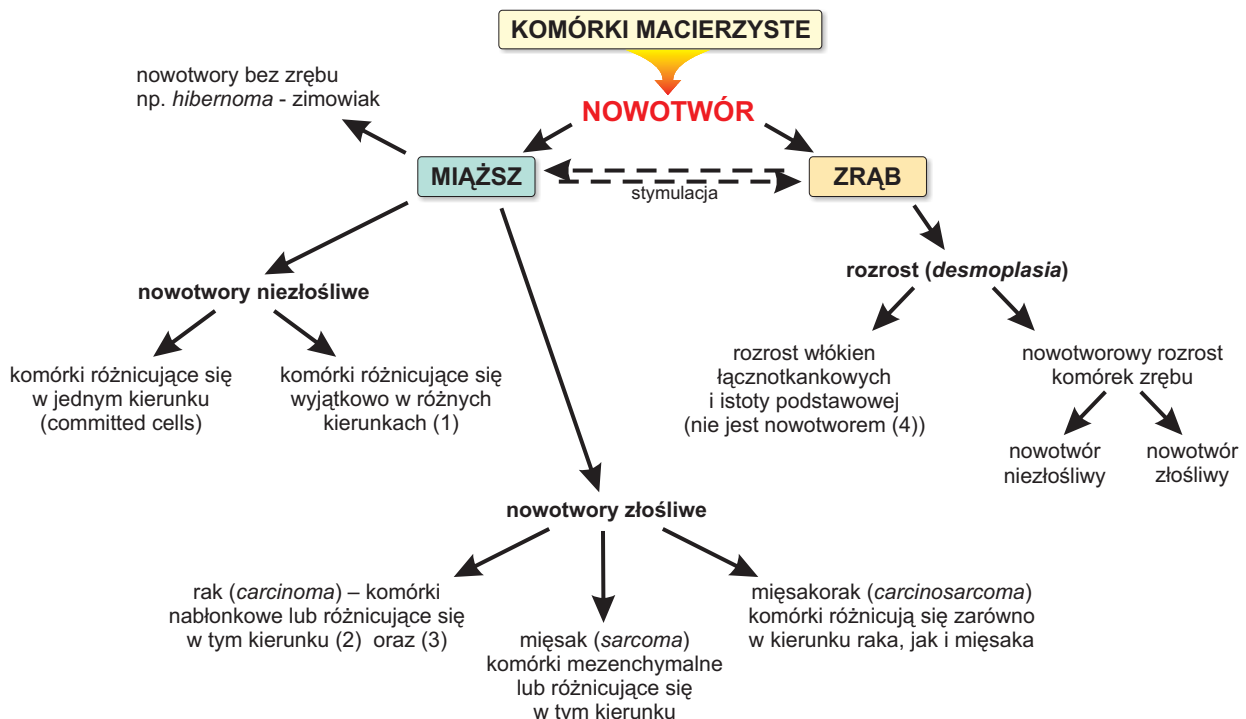
Ryc. 1. Morfologiczny podział zmian guzowatych

Objaśnienia: 1 – np. leukoplakia (rogowacenie białe) → rak płaskonabłonkowy, 2 – np. marskość wątroby → rak wątrobokomórkowy, *xeroderma pigmentosum* → rak skóry, 3 – np. w brucellozie (*brucelloma*), w gruźlicy (*tuberculoma*), 4 – np. hamartoblastoma

pod wpływem rosnącego guza, w jakim natomiast zachowuje cechy otaczającej go tkanki łącznej (ryc. 2). Dowodem na to stwierdzenie jest przerzut nowotworu, w którym wprawdzie rozwija się zarówno mięsz, jak i zrąb, ale mięsz powstaje z komórek nowotwo-

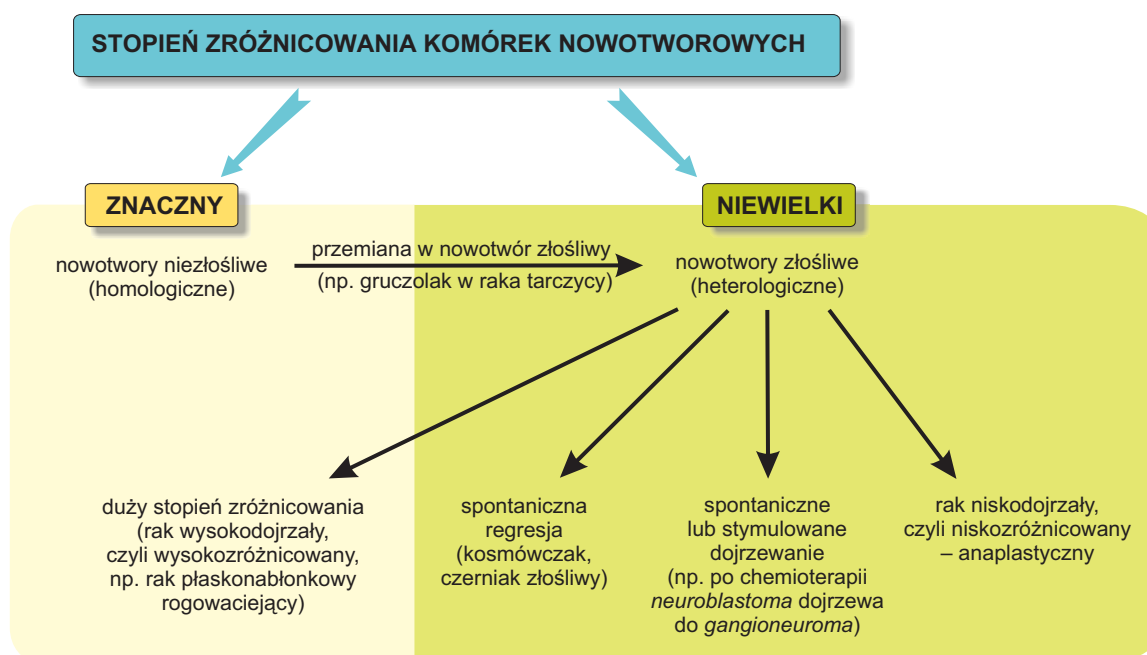
rowych ogniska pierwotnego, zrąb natomiast ze zrębu tego narządu, w którym przerzut się rozwija (9).

Zrąb łącznotkankowy, oprócz komórek, zbudowany jest z istoty międzykomórkowej, która jest m.in. filtrem (tzw. sito molekularne) zatrzymującym substan-



Ryc. 2. Udział mięszu i zrębu w nowotworzeniu

Objaśnienia: 1 – np. włókniakogruczolak (*fibroadenoma*), guz mieszany (*tumor mixtus*), potworniak (*teratoma*); 2 – czasem dla nowotworów nabłonkowych używa się terminu *epithelioma* (nabłoniak), np. *epithelioma basocellulare*; 3 – np. niektóre raki produkują kolagen – rak twardy, czyli włóknisty (*carcinoma scirrhosum, desmoplasticum*); 4 – nieznaczny wpływ na nowotwór, np. poprzez unaczynienie, naciek zapalny



Ryc. 3. Podział nowotworów ze względu na stopień zróżnicowania komórek

cje toksyczne, a wśród nich kancerogeny. Biorąc więc za kryterium podziału zęb, a nie komórki mięszu, nowotwory można podzielić na dwie grupy (9) a – produkujące zęb (nienabłonkowe złośliwe), czyli mięsaki i b – korzystające ze zęb tkanki miejscowej (nabłonkowe złośliwe), czyli raki. Zęb nowotworu może być zatem zębem właściwym, czyli indukowanym przez nowotwór lub składać się ze zęb tkanki, w której nowotwór rośnie, co ma głównie miejsce w guzach rosnących naciekowo.

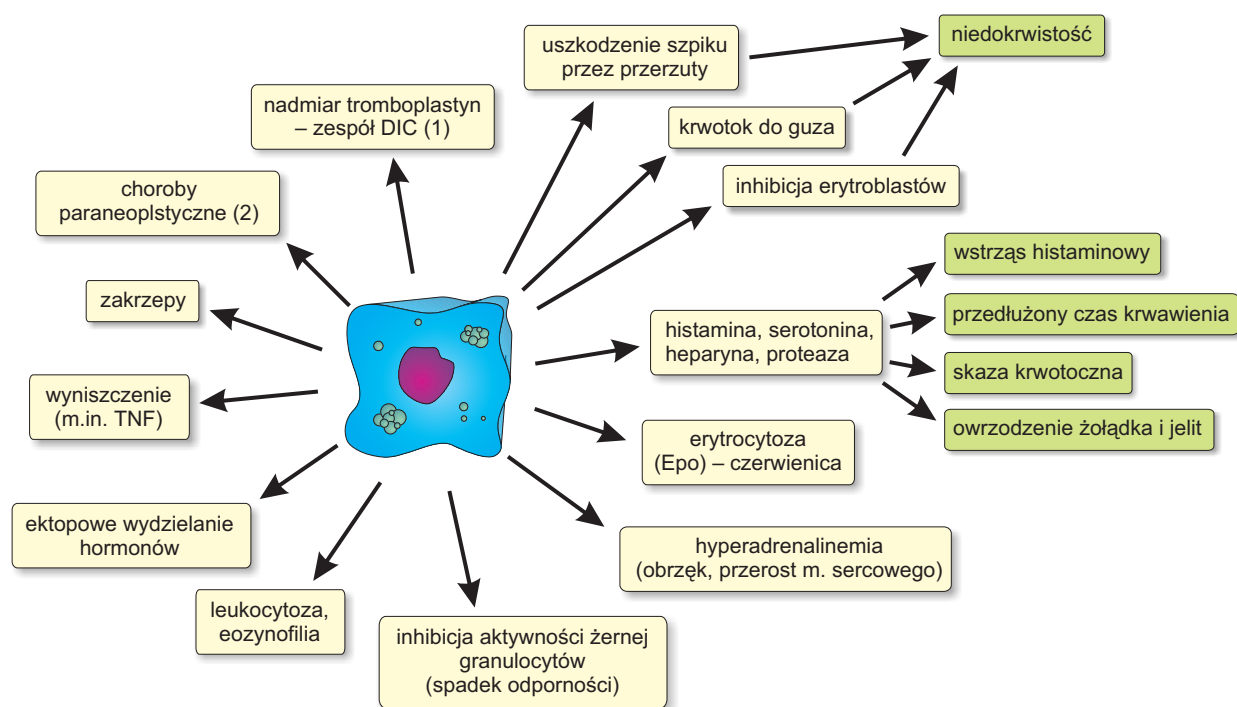
Na ryc. 2 przedstawiono m.in. mięsakoraka (*carcinosarcoma*), czyli rakomięsaka, który jest wprawdzie nowotworem bardzo rzadko spotykanym, ale za to niezwykle ciekawym, bo zbudowanym z utkania zarówno rakowego, jak i mięsakowego jako niezależnych, lecz współistniejących składników. Wg Zollingera (23) mięsakoraki dzieli się na trzy typy: 1 – nowotwór kolizyjny, tj. taki, gdzie występują obok siebie niezależne dwa nowotwory rozwijające się przypadkowo, 2 – nowotwór kompozycyjny (złożony), tj. taki, w którym zarówno rak, jak i mięsak rozwijają się każdy ze swojej komórki prekursorowej i 3 – nowotwór kombinacyjny, tj. taki, gdy dwa typy nowotworów powstają z tej samej komórki macierzystej.

Stopień zróżnicowania komórek nowotworowych, wynikający zarówno z istnienia klonów, jak i subklonów komórkowych, przedstawiono na ryc. 3. Wymieniono tu m.in. raka niezróżnicowanego, którego opis wymaga pewnego komentarza. Jest to rak anaplastyczny (*carcinoma indifferensatum, anaplasticum*) charakteryzujący się zwiększoną liczbą subklonów komórkowych w porównaniu z rakiem wysoko zróżnicowanym. Świadczy to o progresji nowotworowej, czyli złośliwieniu. Subklony różnią się od siebie np. wrażliwością na leki, tempem proliferacji, wrażliwością na hormony, zdolnością do przerzutowania czy karioty-

pem. Mówi się wówczas o komórkach heterologicznych w nowotworze, co wskazuje, że praktycznie każdy nowotwór złośliwy jest trochę inny (14).

Hipoksja guza nowotworowego, zwłaszcza litego, jest powodem selekcji komórek, tj. przeżywają z reguły komórki odporne na apoptozę, zdolne do podziału oraz stymulujące angiogenezę (19). Komórki te mnożą się, co pogłębia hipoksję i powstaje błędne koło, a do niestabilności genetycznej komórek nowotworowych, jak wynika z ostatnich badań, przyczynia się prawdopodobnie czynnik HIF – 1 alfa (hypoxia inducible factor – 1) działający w obecności białka p53 (1, 20, 22). Jego ekspresję zauważono w większości nowotworów, ich przerzutach, a nawet niektórych zmianach przednowotworowych (21). Angiogeneza niesie za sobą zawsze wzrost ryzyka do przerzutowania, gdyż komórki nowotworowe łatwiej wydostają się wówczas do światła naczyń krwionośnych. HIF-1 alfa zwiększa też szybkość proliferacji komórek mniej zróżnicowanych, łatwiej dzielących się, co ułatwione jest większą ekspresją enzymów trawiących ECM (extra cellular matrix – macierz zewnątrzkomórkową), np. katepsyna D, wimentyna. Jedynie Savai i wsp. (13) obserwowali zjawisko odwrotne, tj. zahamowanie wzrostu nowotworów przy nadekspresji HIF-1 alfa.

Przy założeniu, że nowotwór może powstać z jednej komórki macierzystej, potrzeba 30 podziałów komórkowych, aby utworzył się guz o masie 1 g (10^9 komórek), a kolejne 10 podziałów da masę ok. 1 kg (10^{12} komórek), co z reguły prowadzi u ludzi do ich śmierci (14). Jednocześnie należy podkreślić, że w miarę rozwoju nowotworu złośliwego nie jest on już zbudowany wyłącznie z jednorodnych (klonogennych) komórek, ale w jego skład wchodzi zarówno komórki transformowane nowotworowo, jak i komórki prawidłowe o bardzo zróżnicowanej aktywności bio-



Ryc. 4. Skutki nowotworów złośliwych (wybrane cechy)

Objaśnienia: 1 – DIC (disseminated intravascular coagulation) – zespół wykrzepiania wewnątrznaczyniowego; 2 – choroby innych narządów niż narząd objęty nowotworem (zespoły paranowotworowe – paraneoplastic syndromes); Epo – erytropoetyna

logicznej, a więc nowotwór staje się heterologiczny (10). Wyrazem aktywności biologicznej nowotworów złośliwych jest produkcja przez nie wielu substancji z reguły o negatywnym wpływie na ustrój żywiciela (ryc. 4).

Wśród komórek nowotworowych guza spotyka się transformowane komórki będące lub nie będące w cyklu mitotycznym, komórki proliferujące zwane komórkami klonogennymi oraz hybrydy komórkowe (tj. komórka nowotworowa – komórka nowotworowa lub komórka nowotworowa – komórka prawidłowa) (10). Ta późna heterogenność jest prawdopodobnie efektem zmian klonów komórkowych, które ulegają mutacji lub działaniu czynników epigenetycznych zmieniających ich fenotyp, względnie wynikiem wspomnianej hybrydyzacji komórek (16).

Heterogenność nowotworów złośliwych to nie tylko znaczne utrudnienie w diagnostyce histopatologicznej, ale przede wszystkim powód wielu niepowodzeń w ich terapii. Dlatego też w nowoczesnej terapii onkologicznej stosuje się zestawy leków, działających nie tylko na różne fazy dzielących się komórek, ale także na różne subklony komórek nowotworowych.

Piśmiennictwo

- Alfranca A., Gutierrez M. D., Vara A., Aragones J., Vidal F., Landazuri M. O.: c-Jun and hypoxia – induced factor 1 functionally cooperate in hypoxia – induced gene transcription. *Mol. Cell Biol.* 2002, 22, 12-22.
- Anders P. W.: Response: Karyotype of human ES cells during extended culture. *Nat. Biotechnol.* 2004, 22, 371-379.
- Bianco P., Robey P.: Stem cells in tissue engineering. *Nature Lond.* 2001, 414, 118-121.
- Fuller G. M., Shields D.: Podstawy molekularne biologii komórki. Aspekty medyczne. PZWL, Warszawa 2000, s. 20.
- Humpherys D., Eggan K., Akutse H., Hochedlinger K., Rideout W. M., Binaszkiewicz D., Yanagimachi R., Jaenisch R.: Epigenetic instability, [w:] ES Wells and clonal mice. *Science* 2001, 293, 95-97.
- Kawiak J., Hoser G.: Niektóre mechanizmy immunologiczne w nowotworach. Immunoterapia nowotworów w modelach zwierzęcych oraz w klinice. *Post. Biol. Kom.* 2000 (suppl.), 15, 91-99.
- Kawiak J., Zabel M. (red.): Seminarium z cytofizjologii dla studentów medycyny, weterynarii i biologii. Urban&Partner, Wrocław 2002, 347-348.
- Madej J. A.: Etiologia i patogeneza nowotworów. alfa-medica Press, Bielsko-Biala 1999, 76-77.
- Madej J. A.: Udział podścieliska łącznotkankowego w kształtowaniu obrazu patomorfologicznego rozrostu nowotworowego. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 18-22.
- Masliński S., Ryzewski J. (red.): Patofizjologia dla studentów medycyny – podręcznik. PZWL, Warszawa 1998, 872-873.
- Morrison S. J., Shah N. M., Anderson D. J.: Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell* 1997, 88, 287-298.
- Ogura A., Inoue K., Ogonuku N., Lee J., Kohide T., Ishino F.: Phenotype effects of somatic cell cloning in the mouse. *Cloning Stem Cells* 2002, 4, 389-396.
- Savai R., Schermuly R. T., Voswinckel R., Renigunta A., Reichmann B., Eul B., Grimminger F., Seeger W., Rose F., Hauze J.: HIF-1 alpha attenuates tumor growth in spite of augmented vascularization in a A549 adenocarcinoma mouse model. *Int. J. Oncol.* 2005, 27, 393-400.
- Stachura J., Domagała W.: Patologia znaczy słowo o chorobie. Tom I. Patologia ogólna. PAU, Kraków 2003, 155-161.
- Sherley J. L.: Asymmetric cell kinetics genes: the key to expansion of adult stem cells in culture. *Stem Cells* 2002, 20, 561-572.
- Tannoch I. F., Hill R.: The Basic Science of Oncology. Pergamon Press, New York 1987, 211-213.
- Toribara N. W., Sleisenger M. H.: Screening for colorectal cancer. *New Engl. J. Med.* 1995, 332, 861.
- Wagers A. J., Sherwood R. I., Christensen J. L., Weissman I. L.: Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cell. *Science* 2002, 297, 2256-2261.
- Weissman I. L.: Stem cells: units of development, units of regeneration and in evolution. *Cell* 2000, 100, 157-168.
- Weissman I. L.: Stem cells – scientific, medical, and political issues. *New Engl. J. Med.* 2002, 346, 1576-1579.
- Vaupel P., Harrison L.: Tumor hypoxia: causative factors, compensatory mechanisms and cellular response. *Oncologist* 2004, 9, 4-9.
- Zhong H., De Morzo A. M., Laughler E., Lim M., Hilton D. A., Zagzag D., Buechler J. W.: Overexpression of hypoxia – inducible factor 1 alpha in common human cancers and their metastases. *Cancer Res.* 1999, 59, 5830-5835.
- Zollinger H. U.: Anatomia patologiczna. Tom I. Patologia ogólna. PZWL, Warszawa 1978, 307.

Adres autora: prof. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskego 4/5, 50-345 Wrocław