«Μοριακή και Εφαρμοσμένη Φυσιολογία»

ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ:ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Κλάψας Βασίλειος

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2014

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. **ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ(CANCER STEM CELLS, CSCs) 3**

2. **ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΙΣ ΣΥΜΒΑΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ.....5**

3. **ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΩΝ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΙΣ ΣΥΜΒΑΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ 7**

4. **ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ : ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ 11**

5. **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 16**

6. **REFERENCES……17**

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ(CANCER STEM CELLS, CSCs)

Όλοι οι τύποι κακοήθων νεοπλασιών (συμπαγείς/λευχαιμία) παρουσιάζουν αξιοσημείωτη γονοτυπική και φαινοτυπική ετερογένεια. Υπάρχουν στοιχεία ότι το φαινόμενο αυτό οφείλεται στην ύπαρξη συγκεκριμένων κυττταρικών σειρών που επιδεικνύουν ιδιότητες αρχέγονων κυττάρων(cancer stem cells, CSCs), όπως η ικανότητα απεριόριστης αυτοανανέωσης (self-renewal) και η ικανότητα διαίρεσης και διαφοροποίησης προς όλα τα λειτουργικά στοιχεία ενός ιστού (pluripotency). Το μοντέλο-υπόθεση των καρκινικών αρχέγονων κύτταρων(cancer stem cells, CSCs) υποστηρίζει ότι τα CSCs είναι ένας μειοψηφικός πληθυσμός αυτοανανεούμενων κυττάρων τα οποία(1):

• Εγκαινιάζουν και συντηρούν την ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου.

• Συνιστούν την πηγή της ετερογένειας των καρκινικών κυττάρων του όγκου.

• Είναι υπεύθυνα για τις μεταστάσεις.

• Παραμένουν στους ασθενείς μετά την συμπλήρωση των συμβατικών θεραπευτικών σχημάτων.

Το 1961 οι Till και Mc Culloch ανακάλυψαν ότι φυσιολογικά αιμοποιητικά κύτταρα μπορούν να αποκαταστήσουν τη φυσιολογική αιμοποίηση, μετά από εμφύτευσή τους στο μυελό ανοσοκατεσταλμένων πειραματόζωων (NOD/SCID ποντίκια)(2). Η παραπάνω ανακάλυψη ενισχύθηκε από την παρατήρηση ότι ένα μικρό ποσοστό κυττάρων λεμφώματος εμφανίζουν δυνατότητες καρκινογένεσης in vitro(3).

Η πρώτη ισχυρή ένδειξη ότι ένας όγκος μπορεί να αναπαραχθεί κλωνικά από προγονικά πολυδύναμα κύτταρα προέρχεται από τις μελέτες του Philip Fialkow το 1990. Οι Philip Fialkow και συνεργάτες απέδειξαν ότι ώριμα κύτταρα του αίματος δύναται να προέλθουν από κυτταρικές σειρές οξείας μυελογενούς λευχαιμίας μετά από σήμανση των τελευταίων με ισοένζυμα της γλύκοζο-6-φωσφορικής δευδρογενάσης (G6PD(4)).

Η ύπαρξη των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων εδραιώθηκε το 1997 από την έρευνα των Bonnet και Dick. Οι μελέτες τους κατέδειξαν την παρουσία σαφώς καθοριζόμενων κυττάρων με ιδιότητες αυτοανανέωσης, πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης προς κύτταρα οξείας μυελογενούς λευχαιμίας, μετά την εμφύτευσή τους σε γονοτυπικά όμοιους NOD/SCID ποντικούς. Κύριο χαρακτηριστικό των κυττάρων αυτών ήταν η παρουσία του επιφανειακού δείκτη CD 34 και η απουσία του αντίστοιχου δείκτη CD 38(5).

Ακολουθώντας τις αρχικές παρατηρήσεις στη λευχαιμία και με οδηγό διάφορους βιοδείκτες (συνήθως κυτταρικούς δείκτες επιφάνειας) απομονώθηκαν κυτταρικοί υποπληθυσμοί, από διαφορετικές κακοήθειες, με ιδιαίτερα γνωρίσματα αρχέγονων κυττάρων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν CD 24-/CD 44+ κύτταρα από μαστικό καρκίνο, τα οποία επιδεικνύουν υψηλό καρκινογενετικό δυναμικό μετά από εμφύτευσή τους σε φυσιολογικό μαστικό λίπος πειραματόζωων(6). Ομοίως περισσότερες μελέτες ανέδειξαν πιθανά καρκινικά stem cells σε πληθώρα διαφορετικών καρκίνων. Σε όλες τις περιπτώσεις η αναγνώριση των υπό μελέτη κυττάρων γίνεται με το ίδιο μοντέλο : κλασματοποίηση των κυττάρων του όγκου με βάση συγκεκριμένους βιοδείκτες, ακολουθούμενη από μεταμόσχευσή τους σε ανοσοκατεσταλμένα πειραματόζωα. Το μοντέλο αυτό οδήγησε στην αναγνώριση αρχέγονων καρκινικών κυττάρων σε πληθώρα συμπαγών όγκων όπως ο καρκίνος του εγκεφάλου , ο καρκίνος του προστάτη, ο καρκίνος του πνεύμονα, ο καρκίνος του παχέος εντέρου(7) κτλ.

Cancer Type	Cell Surface Markers									Reference
	CD133	CD44	CD24	CD34	CD38	CD117	Nanog	Oct-3/4	Total % of Tumor	
Brain Tumors	+								0.3 to 25.1%	Singh et al., 2003
Prostate Cancer	+									Lang et al., 2008
Colon Cancer	+								0.002%	O'Brien et al., 2007
Lung Cancer	+								5-30%	Eramo et al., 2007
Hepatic Carcinoma	+									Suetsugu et al., 2006
Breast Cancer		+	-							Al-Hajj et al., 2002
Ovarian Cancer		+				+	+	+	0.20%	Zhang et al., 2008
Pancreatic Cancer		+	+						0.2 to 0.8%	Li et al., 2007
Head & Neck Squamous Cell Carcinoma		+							<10%	Prince et al., 2006
Acute Myeloid Leukemia				+	-					Bonnet and Dick, 1997

Εικόνα 1 - Δείκτες καρκινικών stem cells σε καρκίνους διαφόρων ιστών

2 ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΙΣ ΣΥΜΒΑΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Εκτός από τους προαναφερθέντες κυτταρικούς δείκτες επιφανείας, που διαμορφώνουν μια χαρακτηριστική γονοτυπική ταυτότητα, τα αρχέγονα κύτταρα παρουσιάζουν επιπρόσθετα γνωρίσματα που τα διαχωρίζουν από τα υπόλοιπα κύτταρα και σε κάποιο βαθμό ερμηνεύουν μερικές από τις θεμελιώδεις ιδιότητές τους στη γένεση, στη συντήρηση, στην αύξηση καθώς και στη βιολογική συμπεριφορά μιας κακοήθειας, απέναντι σε ενδογενή και εξωγενή ερεθίσματα.

Έχει παρατηρηθεί ότι τα αρχέγονα κύτταρα, καρκινικά ή μη, εκφράζουν μια μεγάλη ποικιλία διαμεμβρανικών πρωτεϊνών-μεταφορέων που επιτρέπουν την ενδοκυττάρια είσοδο συγκεκριμένων μορίων, όπως φαρμάκων και άλλων τοξικών παραγόντων. Η πλειοψηφία των μεταφορέων χρησιμοποιούν τη διάσπαση του ATP (ATP binding cassette/ABC transporters) για το σκοπό αυτό και κατ' επέκταση τη δημιουργία ανθεκτικών αρχέγονων καρκινικών κυττάρων απέναντι σε κοινές αντικαρκινικές θεραπείες, όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία(8,9). Έχουν αναγνωρισθεί πρωτεϊνικά συμπλέγματα τέτοιων διαμεμβρανικών μεταφορέων, τα οποία εξυπηρετούν την ανθεκτικότητα των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων στις συμβατικές θεραπείες, με κύριους εκπροσώπους τα μόρια MRPs/ABCC(multidrug resistance protein), BCRP/ABCG2(breast cancer resistance protein) και P-gp/ABCB1(P-glycoprotein)(10). Από την άλλη μεριά υπάρχουν μελέτες που χρησιμοποιούν την εν λόγω ανθεκτικότητα των CSCs ως εργαλείο για την αναγνώριση και απομόνωση νέων αρχέγονων κυτταρικών πληθυσμών. Πιο συγκεκριμένα, καρκινικά stem cells εμπλουτισμένα με μεγάλο αριθμό μεταφορέων ABC, έχουν την ιδιότητα να αποβάλλουν τη χρωστική Hoescht 33342 όταν η τελευταία ενεθεί σε αυτά. Οι κυτταρικοί αυτοί πληθυσμοί, βιβλιογραφικά γνωστοί ως SPc(side populations cells), φαίνεται να ενισχύουν το μεταστατικό δυναμικό διαφόρων κακοηθειών και την αντίστασή τους στη χήμειο-άκτινο θεραπεία(11,12)

Ένας άλλος κοινός βιοδείκτης των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων φαίνεται να παίζει κύριο ρόλο στην φαρμακευτική αντίσταση του καρκίνου. Πρόκειται για το ένζυμο αλδεϋδική διυδρογενάση(ALDH), η οποία καταλύει την οξείδωση την αλδευδών προς οργανικά(καρβοξυλικά) οξέα(13). Πολλές ισομορφές της ALDH

εκφράζονται σε υψηλό βαθμό σε φυσιολογικά stem cells, γεγονός που οδήγησε στη χρησιμοποίησή της ως δείκτη αναγνώρισης και απομόνωσης παθολογικών αρχέγονων κυττάρων, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα στις περισσότερες περιπτώσεις(14). Πολύ πριν τις παραπάνω παρατηρήσεις είχε γίνει γνωστός ο πιθανός ρόλος της ALDH στην ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων έναντι συγκεκριμένων χημειοθεραπευτικών σχημάτων. Πιο συγκεκριμένα οι Hilton J(1983) και Friedman(1992) είχαν καταδείξει το ρόλο της ALDH στην αντίσταση απέναντι στην κυκλοφωσφαμίδη, η οποία σε πολλές περιπτώσεις μετριαζόταν με τη χρήση αναστολέων του ενζύμου όπως η δισουλφιράμη(15,16). Ομοίως η δράση του ισοενζύμου ALDH1A1 μπορεί να ενισχύσει την ανθεκτικότητα παγκρεατικών καρκινικών κυττάρων σε κυτταροτοξικές θεραπείες όπως η γεμσιταμπίνη(17).

Ένα άλλο μοντέλο ερμηνείας της χημειοαντίστασης των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων έχει τη βάση του στην πρωτείνη BCL-2 . Η πρωτείνη BCL-2 και οι ισομορφές της, μέσω της αλληλεπίδρασής της με προαποπτωτικούς παράγοντες (BAK/BAX), ενισχύει την παραγωγή πρωτεϊνών απόπτωσης, διαδραματίζοντας με αυτό τον τρόπο ένα ρυθμιστικό ρόλο μεταξύ κυτταρικής επιβίωσης και απόπτωσης(18). Με οδηγό τη φυσιολογική της λειτουργία, πολλές μελέτες συσχέτισαν την BCL-2 με το ογκογενετικό δυναμικό αρχέγονων καρκινικών κυττάρων(19) καθώς και με την ανθεκτικότητά τους σε συμβατικές αντικαρκινικές θεραπείες. Ο Todaro, στις μελέτες του στον καρκίνο του παχέος εντέρου, κατέδειξε ότι η έμμεση μείωση της BCL-XL, μετά από θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της IL-4 σε CD 133+ CSCs , αύξησε αυτόματα την ανταπόκριση στο χημειοθεραπευτικό σχήμα oxaliplatin/ 5-fluorouracil (5-FU) (20).

3 ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΩΝ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΣΤΙΣ ΣΥΜΒΑΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Τα κυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια που αφορούν στην κυτταρική επιβίωση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση, παίζουν καθοριστικό ρόλο στην μεταμόρφωση, αρχέγονων ή μη, κυττάρων σε καρκινικά κύτταρα που ενεργούν ως stem cells στη βιολογική συμπεριφορά ενός όγκου. Βασική προϋπόθεση στο μετασχηματισμό αυτό φαίνεται να είναι η απορύθμιση τέτοιων μονοπατιών, όπως τα: Notch, Hedgehog, Wnt/β-catenin, PI3K/AKT, JAK/STAT, NF-κβ κ.α

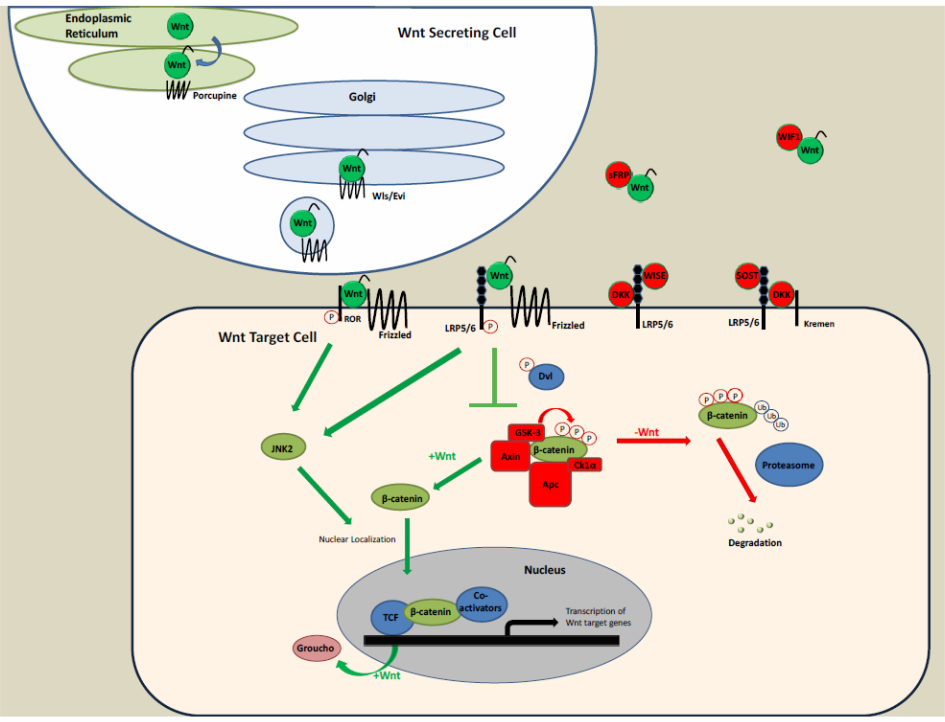
Το σηματοδοτικό μονοπάτι Notch σχετίζεται με πληθώρα βιολογικών διεργασιών, κυρίως κατά την ενδομήτρια ζωή, όπως η επιβίωση, η διαφοροποίηση και η ειδικότητα των αναπτυσσόμενων εμβρυικών κυττάρων. Διακρίνονται 4 υποδοχείς Notch και 5 αντίστοιχοι προσδέτες. Η ένωση υποδοχέα-προσδέτη προκαλεί την πρωτεολυτική διάσπαση του υποδοχέα. Το ενδοκυττάριο τμήμα του τελευταίου μεταναστεύει στον πυρήνα όπου ενεργοποιεί συγκεκριμένους μεταγραφικούς παράγοντες(CLS) προς μεταγραφή γονιδίων όπως τα Hes1, Cyclin D κτλ, τα οποία παίζουν βασικό ρόλο στη διατήρηση και στην προαγωγή των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων(21). Το δεδομένο αυτό έχει καταδειχθεί και από μελέτες, που συνδέουν την υπερέκφραση του Notch 4 με τον καρκίνο του μαστού και ειδικότερα με την αυξημένη δραστηριότητα των αντίστοιχων μαστικών καρκινικών stem cells, ενώ η υποέκφραση του ίδιου υποδοχέα λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό φαινόμενο (22). Ανάλογη απορύθμιση του μονοπατιού Notch έχει καταγραφεί και σε άλλους καρκίνους, όπως του προστάτη, τόσο σε κλινικά εντοπισμένους όγκους, όσο και σε απομακρυσμένες οστεοβλαστικές μεταστάσεις(23).

Το γονίδιο Hedgehog κωδικοποιεί πρωτεΐνες όπως η SONIC(SHH), INDIAN(IHH) και DESERT(DHH), η δράση των οποίων διαμεσολαβείται από τους διαμεμβρανικούς υποδοχείς PATCHED(PTCH1) και SMOOTHENED(SMOH). Η πρόσδεση υποδοχέα-πρωτείνης ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μονοπάτι HH-GLI, με τελικό αποδέκτη τους μεταγραφικούς παράγοντες GLI(1-2-3)(24). Απορύθμιση του μονοπατιού σχετίζεται,

είτε άμεσα, είτε έμμεσα μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια, με αρκετές κακοήθειες(25), ενώ παράλληλα αποτελεί στόχο πολλών καινοτόμων θεραπευτικών παραγόντων, με χαρακτηριστικά παραδείγματα τον καρκίνο του προστάτη και του παγκρέατος(26,27).

Το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/β-catenin παίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου καθώς και στην διαμόρφωση καρκινικών υποπληθυσμών με ιδιότητες αρχέγονων κυττάρων. Αποδιοργάνωση του μονοπατιού έχει παρατηρηθεί στον καρκίνο του παχέος εντέρου, του μαστού, σε διάφορες μορφές λευχαιμίας κ.α.(28) Σε κάθε περίπτωση η πρωτεΐνη β catenin είναι ο καθοριστικός διαμεσολαβητής της σηματοδότησης. Διακρίνονται δυο μορφές της β catenin : η μεμβρανική, η οποία ρυθμίζει την κυτταρική προσκόλληση, μέσω ενεργοποίησης της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης E-cadherin και η ενδοκυττάρια ισομορφή της β catenin , η οποία δρα στον πυρήνα σε συγκεκριμένα γονίδια(ογκογονίδια/ογκοκατασταλτικα γονίδια) όπως τα c-jun, c-myc. Cyclin D, fibronectin(29).

Figure 1. Schematic Diagram of Wnt/β-catenin Signaling Pathway.



Εικόνα 2- Wnt/β catenin signaling pathway

Το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT είναι καθοριστικό για ένα μεγάλο εύρος φυσιολογικών κυτταρικών λειτουργιών όπως η κυτταρική επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και ο μεταβολισμός. Έκτροπή του παραπάνω μοριακού δρόμου συνδιάζεται με καρκινογένεση. Συγκεκριμένες μεταλλάξεις στην κινάση σερίνης/θρεονίνης (π.χ E17K), είναι δυνατόν να ενισχύσουν τη συσσώρευση πρωτεινών όπως η Bcl-2, η οποία με τη σειρά της επάγει το σχηματισμό προ-αποπτωτικών πρωτεινών(BAD) και κατ' επέκταση την ανθεκτικότητα του κυττάρου στην απόπτωση(30*)*. Άλλοι μοριακοί παράγοντες του μονοπατιού(m-TOR, PTEN) δύναται να δράσουν επικουρικά στην δημιουργία κακοήθειας μετά την εμφάνιση συγκεκριμένων μεταλλάξεων(31).

Η ενδοκυττάρια πρωτεΐνη JAK είναι μέλος της οικογένειας των τυροσινικών κινασών. Η δράση της, μετά την ενεργοποίησή της από εξωκυττάριους παράγοντες(κυττοκίνες, αυξητικοί παράγοντες), έχει χαρακτήρα διακόπτη on/off για τη φωσφορυλίωση άλλων πρωτεινών(STAT), οι οποίες σταδιακά προκαλούν τη μεταγραφή «αναβολικών» πυρηνικών πρωτεινών(32). Απορύθμιση του μοριακού μονοπατιού JAK/STAT έχει συσχετισθεί με τη γένεση αιματολογικών κακοηθειών(33)

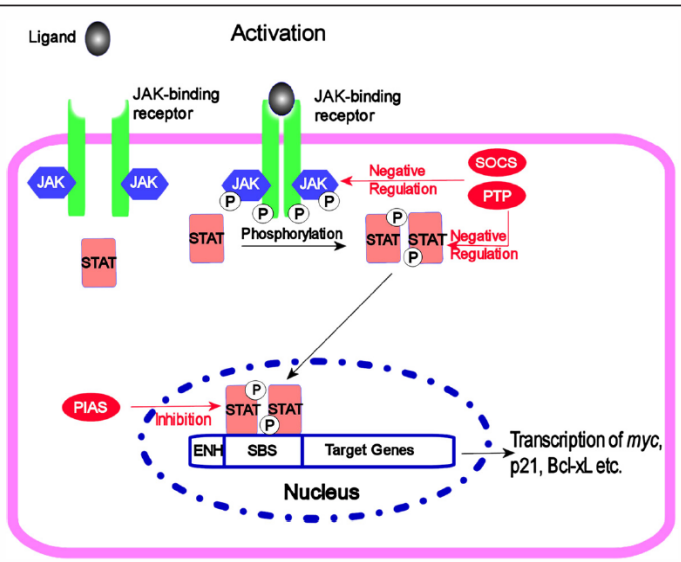
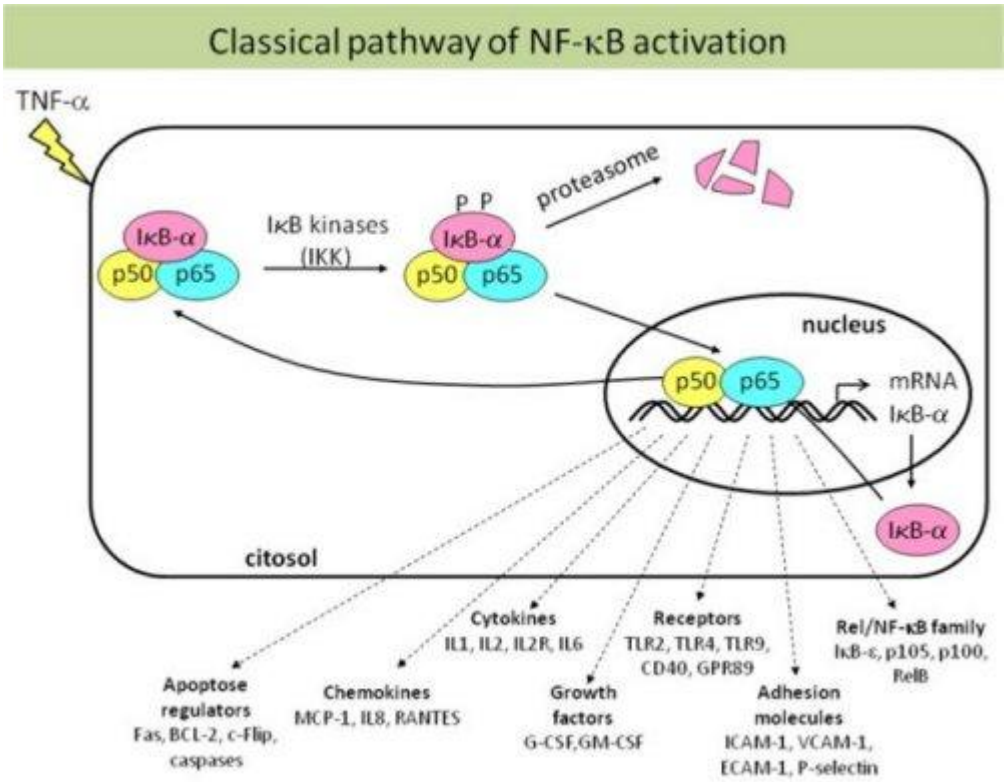


Figure 1 Signaling cascade of JAK-STAT pathway. Binding of the ligand to cytokine receptor induces receptor dimerization and activation of receptor associated JAK kinase, which in turn phosphorylates STAT proteins. After forming a homodimer, STAT proteins translocate to the nucleus to control gene expression. Negative regulation of the JAK-STAT pathway is provided by phospho-tyrosine phosphatases (PTP), member for SOCS family proteins and PIAS proteins (shown in red).

Εικόνα 3-JAK/STAT signaling pathway

Ο NFkβ είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει το επίπεδο πολυάριθμων πρωτεϊνών, ως απάντηση στην επίδραση κυτταροκινών, αντιγόνων, υπεριώδους ακτινοβολίας και άλλων εξωγενών ερεθισμάτων(34). Μεταξύ άλλων, ο NFkβ αποτελεί ρυθμιστή πολλών αποπτωτικών πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα η υπερλειτουργία του να σχετίζεται με την καρκινογένεση, την ανάπτυξη νεοπλασμάτων και την αντίστασή τους σε συμβατικές αντινεοπλασματικές θεραπείες(35).



Εικόνα 4-NF-KB activation pathway

4 ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ : ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η βιολογική συμπεριφορά των καρκινικών stem cells αποτελεί βασικό συντελεστή στη δημιουργία αντίστασης του καρκίνου έναντι συμβατικών θεραπειών, όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία. Με βάση το δεδομένο αυτό, η τρέχουσα έρευνα στο πεδίο των CSCs έχει επικεντρωθεί στην ανάπτυξη νέων αντινεοπλασματικών παραγόντων με ειδικότητα απέναντι στις χαρακτηριστικές ιδιότητες και στο μικροπεριβάλλον των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων.

Η πρώτη προσέγγιση στη ανάπτυξη τέτοιων θεραπειών είναι η στόχευση πρωτεϊνών κυτταρικής επιφάνειας, χαρακτηριστικών για τα υπό μελέτη κύτταρα. Στο πλείστον των περιπτώσεων, οι ερευνητές χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των συγκεκριμένων κατά περίπτωση επιφανειακών βιοδεικτών. Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα είναι ο παράγοντας gemtuzumab ozogamicin, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD 33, ο οποίος υπερεκφράζεται σε αρχέγονα νεοπλασματικά κύτταρα της οξείας μυελογενούς λευχαιμίας. Ο παραπάνω παράγοντας χρησιμοποιήθηκε ευρέως στη θεραπεία της ΟΜΛ, μέχρι και την απόσυρσή του το 2010, λόγω στατιστικά σημαντικής θνητότητας στη μελέτη SWONG S0106(36). Στην ίδια λογική κινούνται ανάλογες μελέτες που χρησιμοποιούν αντισώματα έναντι δεικτών επιφανείας που υπερεκφράζονται σε άλλες, αιματολογικές ή συμπαγείς κακοήθειες, όπως ο CD44 στην ΟΜΛ(37)και στον καρκίνο του μαστου(photothermal therapy of MCF-7 breast cancer)(59), ο CD47 στην ΟΛΛ(38) κ.α. Άλλος ένας στόχος μονοκλωνικών αντισωμάτων έχει αποτελέσει ο δείκτης επιφανείας CD133, ο οποίος υπερεκφράζεται σε διάφορες κακοήθειες όπως ο καρκίνος του παχέος εντέρου, ο καρκίνος του μαστού, ο καρκίνος του προστάτη και το γλοίωμα. Οι αντίστοιχες μελέτες στο γλοιοβλάστωμα και στον καρκίνο του παχέος εντέρου έδειξαν ελπιδοφόρα αποτελέσματα, τόσο στην μείωση του κακοήθους δυναμικού των εν λόγω όγκων, όσο και στην αύξηση της αποτελεσματικότητας των καθιερωμένων χημειοθεραπευτικών σχημάτων(39)

Άλλος ένας υποψήφιος θεραπευτικός στόχος στη βιολογία των καρκινικών stem cells είναι οι διαμεμβρανικές τους πρωτεϊνες(ATP binding cassette/ABC transporters), οι οποίες όπως προαναφέρθηκε, παίζουν κύριο ρόλο στη χήμειο/άκτινο-ανθεκτικότητα των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων. Από τις αρχές της δεκαετίας του 1980 είχαν εντοπιστεί οι πρώτοι αναστολείς «αρχέγονων» διαμεμβρανικών μεταφορέων, με κύριους εκπροσώπους τη βεραπαμίλη, την κυκλοσπορίνη και την ταμοξιφαίνη. Παρά την in vitro αποτελεσματικότητά τους οι παραπάνω θεραπευτικοί παράγοντες δεν προχώρησαν στην κλινική πράξη, λόγω των τοξικά υψηλών δόσεων που απαιτούνταν όταν χρησιμοποιούνταν στον άνθρωπο(40). Στην προσπάθεια αναζήτησης νέων αναστολέων, διάφορες μελέτες ανέδειξαν νέους θεραπευτικούς παράγοντες, λιγότερο τοξικούς, όπως οι ουσίες dexverapamil, dexniguldipine, valspodar (PSC 833), και biricodar (VX-710)(41). Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι ο αναστολέας του MDR valspodar (PSC 833), ίσως ο πιο καλά μελετημένος παράγοντας από τους παραπάνω, δύναται να αυξήσει την αποτελεσματικότητα της δοξορουβικίνης όταν συγχορηγηθεί με αυτή(42). Η αχίλλειος πτέρνα των παραπάνω παραγόντων αποτελεί η αναστολή του κυτοχρώματος P450, με αποτέλεσμα η δράση τους να επηρεάζει τη φαρμακοκινητική των χημειοθεραπευτικών σχημάτων και κατ΄επέκταση να επιτείνει την τοξικότητά τους(43). Οι τελευταίας γενιάς αναστολείς περιλαμβάνουν παράγοντες όπως οι MS-209 και tariquidar, οι οποίοι καταστέλλουν, τόσο την P-gl, όσο και την πρωτείνη MRP. Ειδικότερα το tariquidar έχει επιδείξει αρκετά ελπιδοφόρα αποτελέσματα σε συνδιασμό με δοσιταξέλη, σε διάφορους καρκίνους(ωοθηκών, νεφρού, πνεύμονα, μήτρας), σε μελέτες υπό την αιγίδα του National Cancer Institute(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00069160). Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί με το MS-209 στον φλοιεπινεφριδιακό καρκίνο(Clinical-Trials.gov identifier: NCT00073996).

Τα σηματοδοτικά μονοπάτια που χαρακτηρίζουν τη βιολογία των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων αποτελούν επίσης ένα δημοφιλές πεδίο έρευνας στην προσπάθεια την στοχευμένων αντικαρκινικών θεραπειών. Στην πράξη υπάρχουν πολλά θεραπευτικά πρωτόκολλα φαρμακευτικών παραγόντων, αντισωμάτων κ.α, τα

οποία αναστέλλουν διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια που υπερεκφράζονται στα καρκινικά stem cells:

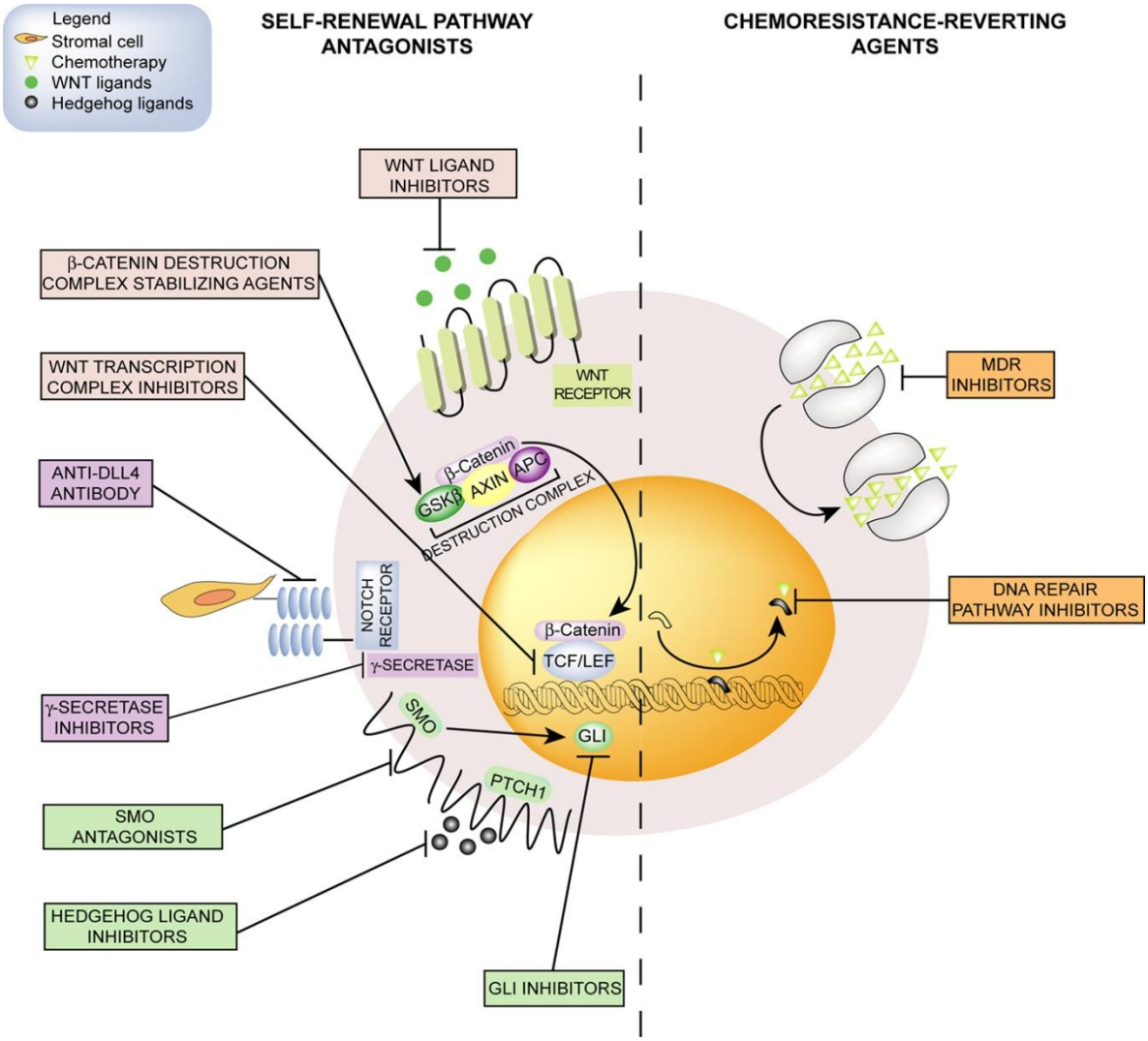
Notch: μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του υποδοχέα Notch1 μειώνουν τα μεταστατικά συμβάματα στον εγκέφαλο, σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού. Η δράση των συγκεκριμένων αντισωμάτων επιδρά κατασταλτικά στον κυτταρικό υποπληθυσμό CD44+/CD24- (44). Κατά ανάλογο τρόπο το σηματοδοτικό μονοπάτι μπορεί να αναχαιτισθεί με άλλους παράγοντες, όπως οι αναστολείς της γ-σεκρετάσης(GSIs), οι οποίοι επίσης μπλοκάρουν τους υποδοχείς Notch. Τόσο τα μονοκλωνικά αντισώματα όσο και οι GSIs έχουν χρησιμοποιηθεί σε κλινικές δοκιμές αρχικών φάσεων σε διάφορους μεταστατικούς καρκίνους(θυρεοειδούς, πνεύμονα, παχέος εντέρου, σαρκώματα κ.α) με ενθαρρυντικά αποτελέσματα(45).

HH-GLI: ο αποκλεισμός της σηματοδότησης του HH-GLI με το φάρμακο κυκλοπραμίνη ή με anti-SHH αντισώματα αναστέλλει τόσο τη φυσιολογική ανάπτυξη του προστάτη όσο και την πρόοδο του καρκίνου στον αδένα (46). Πράγματι υψηλά επίπεδα της πρωτείνης SHH σχετίζονται με αυξημένο πολλαπλασιασμό και καρκινογένεση (η SHH έχει προταθεί και ως δείκτης για το screening του καρκίνου του προστάτη)(47). Εκτός από τον καρκίνο του προστάτη η κυκλοπραμίνη, ως αναστολέας του διαμεμβρανικού υποδοχέα SMOOTHENED(SMOH), φαίνεται να μειώνει το μεταστατικό δυναμικό και σε άλλους καρκίνους (μαστός, πάγκρεας, εγκέφαλος) τόσο in vitro, όσο και in vivo. Σε συνδιασμό μάλιστα με τη γεμσιταμπίνη ελαττώνει τα αρχέγονα κύτταρα που υπερεκφράζουν την ALDH, ενώ σε συνδιασμό με τον αλκυλιούντα παράγοντα temozolomide αναστέλλει την ανάπτυξη κυττάρων γλοιώματος στο εργαστήριο(48).

Wnt/β-catenin: η μοριακή σύνδεση του μονοπατιού με την κυκλοοξυγενάση(COX) καθιστά δυνατή την εν μέρει αναστολή του από τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη(ΜΣΑΦ)(αναστολείς COX), γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με μελέτες που αναδεικνύουν την αντικαρκινική δράση των ΜΣΑΦ/ασπιρίνης σε

διάφορους καρκίνους, όπως αυτός του παχέος εντέρου(49,50). Ανάλογη αντικαρκινική δράση μέσω πιθανής αναστολής της β-catenin φαίνεται να έχει και η Vit D(51). Η αναστολή του μονοπατιού έχει επίσης επιχειρηθεί με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των Wnt-1 και Wnt-2 υποδοχέων. Ο Jablons έδειξε μέσα από μια σειρά μελετών ότι τα συγκεκριμένα αντισώματα ενισχύουν την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων τόσο in vitro, όσο και in vivo(52,53,54). Για τον ίδιο σκοπό έχουν χρησιμοποιηθεί μόρια για την έμμεση αναστολή του μονοπατιού, τα οποία επιδρούν σε μεταγραφικούς παράγοντες-στόχους της β-catenin όπως ο TCF(T-cell factor) και η πρωτείνη CBP(cyclic-AMP response element binding protein)(55). Σε κάθε περίπτωση χρειάζονται πρισσότερες μελέτες για να αποδειχθεί η κλινική αποτελεσματικότητα όλων των παραπάνω παραγόντων.

JAK/STAT: υπάρχει πληθώρα μελετών για τη χρησιμοποίηση αναστολέων του μονοπατιού στη θεραπευτική αντιμετώπιση διάφορων κακοηθειών στο μοριακό επίπεδο των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων. Ο παράγοντας Ruxolitinib, ένας μη εκλεκτικός JAK1/JAK2 αναστολέας, φαίνεται να είναι αποτελεσματικός στην παρηγορική θεραπεία ασθενών με μυελοίνωση, σύμφωνα με τις τυχαιοποιημένες μελέτες COMFORT1-2(56). Παρόμοια μελέτη στον καρκίνο του πνεύμονα έδειξε ότι το Ruxolitinib αυξάνει την ευαισθησία του όγκου στην σισπλατίνη όταν τα δυο φάρμακα συγχορηγούνται(55). Άλλοι παράγοντες που έχουν χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς με μυελοίνωση όπως οι SAR302503(JAK2 inhibitor), Lestaurtinib(JAK2/JAK3,FLT-3 inhibitor) και pactitinib(caspase depended apoptosis inhibitor) παρουσιάζουν τα ίδια θετικά αποτελέσματα με το Ruxolitinib. Τέλος νεότεροι αναστολείς όπως οι XL019 και LY2784544 εμφανίζουν μεγαλύτερη εκλεκτικότητα στην αναστολή του μονοπατιού, εντούτοις χρειάζονται πολύ περισσότερες μελέτες για να αποδειχθεί και στην πράξη η κλινική αποτελεσματικότητά τους(56).



Εικόνα 5- *Emerging pharmacological strategies for CSCs targeting include self-renewal pathway antagonists and chemoresistance-reverting agents*

NFkβ: αντιπροσωπευτικοί αναστολείς του NFkβ όπως οι παράγοντες PDTC και Curcumin, σε συνδιασμό με εδραιωμένα χημειοθεραπευτικά σχήματα, ενισχύουν την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και μειώνουν τη χημειοανθεκτικότητά τους συνήθως μέσω εξασθένησης της πρωτείνης MDR-1(57,58).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Συμπερασματικά η ύπαρξη των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων πρέπει να θεωρείται δεδομένη. Τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν ειδικά χαρακτηριστικά που τα διαχωρίζει από άλλους καρκινικούς υποπληθυσμούς: αυτοανανέωση, διαφοροποίηση, καρκινογένεση και μεταστατικό δυναμικό. Στις περισσότερες περιπτώσεις η μοριακή τους ταυτότητα καθορίζεται από συγκεκριμένους δείκτες κυτταρικής επιφάνειας, ένζυμα και πρωτεΐνες που υπερεκφράζουν. Κομβικό σημείο στη μεταμόρφωση ενός αρχέγονου καρκινικού κυττάρου είναι η παρεκτροπή των σηματοδοτικών μονοπατιών που ρυθμίζουν την ισορροπία μεταξύ κυτταρικής επιβίωσης και απόπτωσης. Η ικανότητα των καρκινικών stem cells να ανθίστανται στις καθιερωμένες αντικαρκινικές θεραπείες τα καθιστά ελκυστικό πεδίο έρευνας για την ανεύρεση στοχευμένων, καινοτόμων αντικαρκινικών παραγόντων. Η τρέχουσα αντικαρκινική έρευνα μελετά πολλούς τέτοιους παράγοντες, οι οποίοι συνήθως στοχεύουν στα ειδικά γονοτυπικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων, στις περισσότερες των περιπτώσεων με αρκετά ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Εντούτοις το χάσμα μεταξύ της έρευνας και της κλινικής πράξης απαιτεί τη διενέργεια περισσότερων μελετών και κλινικών δοκιμών, που θα εδραιώσουν τους νέους υποψήφιους αντικαρκινικούς παράγοντες.

REFERENCES

1) C. T. Jordan, M. L. Guzman, M. Noble. Cancer Stem Cells. N Engl J Med 2006; 3551253-61
2) Till JE, McCulloch CE. 1961. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat. Res.* 14:213–22
3) Bruce WR, Van Der Gaag H. A quantitative assay for the number of murine lymphoma cells capable of proliferation *in vivo*. Nature 1963
4) Fialkow PJ. 1990. Stem cell origin of human myeloid blood cell neoplasms. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 74:43–47
5) Bonnet D, Dick JE. 1997. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.* 3:730–37
6) Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. 2003 Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells Proc. Natl. Acad.Sci.
7) Michail Shipitsin, Kornelia Polyak. The cancer stem cell hypothesis: in search of definitions, markers, and relevance. Laboratory Investigation 2008
8) Zhou, S., Schuetz, J.D., Bunting, K.D., Colapietro, A.M., Sampath, J., Morris, J.J., Lagutina, I., Grosveld, G.C., Osawa, M., Nakauchi, H., and Sorrentino, B.P. 2001. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat Med* 7(9): 1028-1034.
9) Hirschmann-Jax, C., Foster, A.E., Wulf, G.G., Nuchtern, J.G., Jax, T.W., Gobel, U., Goodell, M.A., and Brenner, M.K. 2004. A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(39): 14228-14233
10) Deeley RG, Westlake C, Cole SPC. Transmembrane transport of Endo- and xenobiotics by mammalian ATP-binding cassette multidrug resistance proteins. Physiol Rev 2006; 86: 849–99.

11) Scharenberg CW, Harkey MA, Torok-Storb B: The ABCG2 transporter is an efficient Hoechst 33342 efflux pump and is preferentially expressed by immature human hematopoietic progenitors. *Blood* 2002, 99:507-

12) Chiba T, Kita K, Zheng YW, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, Nakauchi H, Taniguchi H: Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. *Hepatology* 2006, 44:240-

13) Ikawa M, Impraim CC, Wang G, Yoshida. A Isolation and characterization of aldehyde dehydrogenase isozymes from usual and atypical human livers J Biol Chem. 1983 May 25;258(10):6282-7.

14) Ginestier, C., Hur, M.H., Charafe-Jauffret, E., Monville, F., Dutcher, J., Brown, M., Jacquemier, J., Viens, P., Kleer, C.G., Liu, S., Schott, A., Hayes, D., Birnbaum, D., Wicha, M.S., and Dontu, G. 2007. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell*

15) Hilton J: Role of aldehyde dehydrogenase in cyclophosphamide-resistant L1210 leukemia. *Cancer Res* 1984, 44:5156-5160.

16) Friedman HS, Colvin OM, Kaufmann SH, Ludeman SM, Bullock N, Bigner DD, Griffith OW:Cyclophosphamide resistance in medulloblastoma. *Cancer Res* 1992, 52:5373

17) Kim SK[1], Kim H, Lee DH, Kim TS, Kim T, Chung C, Koh GY, Kim H, Lim DS. Reversing the intractable nature of pancreatic cancer by selectively targeting ALDH-high, therapy-resistant cancer cells Plos one 2013

18) Kelly PN, Strasser A: The role of Bcl-2 and its pro-survival relatives in tumourigenesis and cancer therapy. *Cell Death Differ* 2011, 18:1414-1424

19) Madjd Z, Mehrjerdi AZ, Sharifi AM, Molanaei S, Shahzadi SZ, Asadi-Lari M: CD44+ cancer cells express higher levels of the anti-apoptotic protein Bcl-2 in breast tumours. Cancer Immun. 2009

20) Todaro M, Alea MP, Di Stefano AB, Cammareri P, Vermeulen L, Iovino F, Tripodo C, Russo A, Gulotta G, Medema JP, Stassi G: Colon cancer stem cells dictate tumor growth and resist cell death by production of interleukin-4. *Cell Stem Cell* 2007, 1:389-402

21) Miele L, Miao H, Nickoloff BJ (2006) NOTCH signaling as a novel cancer therapeutic target. Curr Cancer Drug Targets 6:313–323
22) Dontu G, Jackson K, McNicholas E, Kawamura M, Abdallah W, Wicha M. Role of Notch signaling in cell-fate determination of human mammary stem/progenitor cells. Breast Cancer Res 2004; 6: R605–R615
23) Wang et al 2010 Down-regulation of Notch-1 and Jagged-1 inhibits prostate cancer cell growth, migration and invasion, and induces apoptosis via inactivation of Akt, mTOR, and NF-κB signaling pathways
24) Ruiz i Altaba, A. et al. (2004) Hedgehog–Gli signaling in brain tumors: stem cells and paradevelopmental programs in cancer. Cancer Lett. 204, 145–157
25) Coni S[1], Infante P, Gulino A Control of stem cells and cancer stem cells by Hedgehog signaling: pharmacologic clues from pathway dissection. Biochem Pharmacol. 2013 Mar 1;85(5):623-8.
26) Gonnissen A[1], Isebaert S, Haustermans K Hedgehog signaling in prostate cancer and its therapeutic implication. Int J Mol Sci. 2013 Jul 4;14(7):13979-4007.
27) Onishi H, Katano M. Hedgehog signiling pathway as a new therapeutic target in pancreatic cancer. World J Gastroenterol. 2014 Mar 7;20(9):2335-42
28) Reya, T.; Clevers, H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* **2005**, *434*, 843-850
29) Kenneth C. Valkenburg, Carrie R. Graveel, Cassandra R. Zylstra-Diegel, Zhendong Zhong and Bart O. Williams *. Wnt/β-catenin Signaling in Normal and Cancer Stem Cells Van Andel Research Institute USA
30) Guo G, Qiu X, Wang S, Chen Y, Rothman PB, Wang Z, *et al*. Oncogenic E17K mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 promotes v-Abl-mediated pre-B-cell transformation and survival of Pim-deficient cells. Oncogene 2010; 29: 3845–53.
31) Gutierrez A, Sanda T, Grebliunaite R, Carracedo A, Salmena L, Ahn Y, *et al*. High frequency of PTEN, PI3K, and AKT abnormalities in T-cell acute lymphoblastic leukemia. Blood 2009; 114: 647–50.

32) Vera J, Rateitschak K, Lange F, Kossow C, Wolkenhauer O, Jaster R: Systems biology of JAK-STAT signalling in human malignancies. Prog Biophys Mol Biol 2011, 106(2):426–434

33) Dysregulation of JAK-STAT pathway in hematological malignancies and JAK inhibitors for clinical application Furqan et al. Biomarker Research 2013, 1:5

34) Baud V, Karin M. Is NF-[kappa]B a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. Nat Rev Drug Discov 2009; 8: 33–40

35) Chaturvedi MM, Sung B, Yadav VR, Kannappan R, Aggarwal BB. NF-[kappa]B addiction and its role in cancer: one size does not fit all. Oncogene 2011; 30: 1615–30.

36) Brotelle T[1], Lemal R[1], Moluçon-Chabrot C[1], Bay JO[2], Delaunay J[3], Guièze R[2]. Gemtuzumab ozogamicin for treatment of acute myeloid leukemiaBull Cancer. 2014 Feb;101(2):211-8

37) Jin L[1], Hope KJ, Zhai Q, Smadja-Joffe F, Dick JE. Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells Nat Med. 2006 Oct;12(10):1167-74.

38) Jin L[1], Lee EM, Ramshaw HS, Busfield SJ, Peoppl AG, Wilkinson L, Guthridge MA, Thomas D, Barry EF, Boyd A, Gearing DP, Vairo G, Lopez AF, Dick JE, Lock RB. Monoclonal antibody-mediated targeting of CD123, IL-3 receptor alpha chain, eliminates human acute myeloid leukemic stem cells. Cell Stem Cell. 2009 Jul 2;5(1):31-42.

39) Chemotherapy and Cancer Stem Cells Jeremy N. Rich1,2,3,* and Shideng Bao4,5 Cell Stem Cell Previews

40) Krishna R, Mayer LD. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. Eur J Pharm Sci. 2000;11:265-283.

41) Hilary Thomas, MA, FRCP, FRCR, PhD, and Helen M. Coley, PhD Overcoming Multidrug Resistance in Cancer: An Update on the Clinical Strategy of Inhibiting P-Glycoprotein Cancer Control March/April 2003, Vol. 10, No.2

42) Bajelan E[1], Haeri A, Vali AM, Ostad SN, Dadashzadeh S. Co-delivery of doxorubicin and PSC 833 (Valspodar) by stealth nanoliposomes for efficient overcoming of multidrug resistance. J Pharm Pharm Sci. 2012;15(4):568-82.

43) Fischer V, Rodriguez-Gascon A, Heitz F, et al. The multidrug resistance modulator valspodar (PSC 833) is metabolized by human cytochrome P450 3A: implications for drug-drug interactions and pharmacological activity of the main metabolite. *Drug Metab Dispos*. 1998;26:802-811.

44) McGowan PM, Simedrea C, Ribot EJ, Foster PJ, Palmieri D, Steeg PS, *et al*. Notch1 inhibition alters the CD44hi/CD24lo population and reduces the formation of brain metastases from breast cancer. Mol Cancer Res 2011; 9: 834–44.

45) Takebe N[1], Nguyen D[2], Yang SX[3]. Targeting notch signaling pathway in cancer: clinical development advances and challenges. Pharmacol Ther. 2014 Feb;141(2):140-9.

46) Karhadkar, S.S. et al. (2004) Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. Nature 431, 707–712

47) Sheng, T. et al. (2004) Activation of the hedgehog pathway in advanced prostate cancer. Mol. Cancer 3, 29

48) Ke Chen, Ying-hui Huang and Ji-long Chen Understanding and targeting cancer stem cells: therapeutic implications and challenges Acta Pharmacologica Sinica (2013) 34: 732–740

49) Dihlmann, S.; Siermann, A.; von Knebel Doeberitz, M. The nonsteroidal anti-inflammatory drugs aspirin and indomethacin attenuate beta-catenin/TCF-4 signaling. *Oncogene* **2001**, *20*, 645-653

50) Boon, E.M.; Keller, J.J.; Wormhoudt, T.A.; Giardiello, F.M.; Offerhaus, G.J.; van der Neut, R.; Pals, S.T. Sulindac targets nuclear beta-catenin accumulation and Wnt signalling in adenomas of patients with familial adenomatous polyposis and in human colorectal cancer cell lines. *Br. J. Cancer* **2004**, *90*, 224-229.

51) Harris, D.M.; Go, V.L. Vitamin D and colon carcinogenesis. *J. Nutr.* **2004**, *134*, 3463S-3471S

52) He, B.; You, L.; Uematsu, K.; Xu, Z.; Lee, A.Y.; Matsangou, M.; McCormick, F.; Jablons, D.M. A monoclonal antibody against Wnt-1 induces apoptosis in human cancer cells. *Neoplasia* **2004**, *6*, 7-14.

53) You, L.; He, B.; Xu, Z.; Uematsu, K.; Mazieres, J.; Fujii, N.; Mikami, I.; Reguart, N.; McIntosh, J.K.; Kashani-Sabet, M.; McCormick, F.; Jablons, D.M. An anti-Wnt-2 monoclonal antibody induces apoptosis in malignant melanoma cells and inhibits tumor growth. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 5385-5389.

54) You, L.; Kim, J.; He, B.; Xu, Z.; McCormick, F.; Jablons, D.M. Wnt-1 signal as a potential cancer therapeutic target. *Drug News Perspect.* **2006**, *19*, 27-31.

55) Xu Y, Wang J, Li X, Liu Y, Dai L, Wu X, Chen C. Selective inhibition of breast cancer stem cells by gold nanorods mediated plasmonic hyperthermia. Biomaterials. 2014 May;35(16):4667-77.

56) Ferrajoli A, Faderl S, Ravandi F, Estrov Z: The JAK-STAT pathway: a therapeutic target in hematological malignancies. Curr Cancer Drug Targets 2006, 6(8):671–679

57) Fan L[1], Li F, Zhang H, Wang Y, Cheng C, Li X, Gu CH, Yang Q, Wu H, Zhang S. Co-delivery of PDTC and doxorubicin by multifunctional micellar nanoparticles to achieve active targeted drug delivery and overcome multidrug resistance. Biomaterials. 2010 Jul;31(21):5634-42.

58) Ganta S[1], Amiji M. Coadministration of Paclitaxel and curcumin in nanoemulsion formulations to overcome multidrug resistance in tumor cells. Mol Pharm. 2009 May-Jun;6(3):928-39.

59) Alkilany AM, Thompson LB, Boulos SP, Sisco PN, Murphy CJ. Gold nanorods: Their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. Adv Drug Deliv Rev 2012; 64: 190–9

60) Marcello Maugeri-Saccà[1], Ann Zeuner[1] and Ruggero De Maria, Therapeutic targeting of cancer stem cells Front. Oncol., 17 June 2011