

Το Λευχαιμικό Stem Cell

Κωνσταντία Παυλάκη, Χαράλαμπος Ποντίκογλου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Με τον όρο λευχαιμικά stem cells (Leukemia Stem Cells – LSCs) εννοείται ένας υποπληθυσμός λευχαιμικών κυττάρων, τα οποία έχουν την ιδιότητα να δίνουν γένεση και να διαβιώνουν τη λευχαιμία. Σε αυτή την ανασκόπηση θα συζητηθούν μοριακά και κυτταρικά χαρακτηριστικά των LSCs, απαραίτητα για την επιβίωσή τους. Αυτά περιλαμβάνουν ενδογενή σηματοδοτικά μονοπάτια, αλλά και στοιχεία του μικροπεριβάλλοντος ή «λευχαιμικής φωλιάς». Η τελευταία αλληλεπιδρά με τα LSCs και λειτουργεί ως «καταφύγιο» για αυτά προσδίδοντας τους ιδιότητες όπως η χημειοανθεκτικότητα, με αποτέλεσμα τα αυξημένα ποσοστά υποτροπής της νόσου, παρά την αρχική ύφεση. Κατ' αυτήν την έννοια, η «λευχαιμική φωλιά» και οι αλληλεπιδράσεις της με τα LSCs θα μπορούσαν να αποτελέσουν ενδεχόμενους στόχους για μελλοντικές θεραπείες.

Haema 2017; 8(2): 130-135 Copyright EAE

Εισαγωγή

Η ιδιότητα ενός κυττάρου να «διαφεύγει» της απόπτωσης, λόγω συσσωρευμένων γονιδιακών μεταλλάξεων, και να πολλαπλασιάζεται ανεξέλεγκτα, θεωρείται ως καρκινογένεση¹. Ως καρκινικά stem cells (Cancer Stem Cells – CSCs), θεωρούνται τα stem cells που έχουν χάσει τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου για τον αριθμό των αναδιπλασιασμών και των διαιρέσεων που υπόκεινται². Χαρακτηρίζονται δε, από την ικανότητα τους, εάν μεταμοσχευθούν σε ανοσοκατασταλμένα (Severe Combined Immunodeficiency – SCID) ζωικά μοντέλα, να διαφοροποιούνται σε κύτταρα της υποκείμενης κακοήθειας, ικανά να προκαλούν κακοήθεια³. Το αιμοποιητικό σύστημα είναι το πρώτο σύστημα στο οποίο επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη CSCs⁴. Το λευχαιμικό stem cell (Leukemia Stem Cell – LSC) παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες με το αιμοποιητικό stem cell (Haematopoietic Stem Cell – HSC)⁵. Διαθέτει την ικανότητα της αυτο-ανανέωσης και διαφοροποίησης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία λευχαιμίας^{5,6} και του πολλαπλασιασμού *in vitro*⁴. Κατά τη διάρκεια της νόσου τα LSCs μπορούν να προέλθουν από διαφο-

ρετικά κύτταρα, τόσο από HSCs όσο και από προγονικά κύτταρα της μυελικής σειράς, ως αποτέλεσμα πολλαπλών μεταλλάξεων⁷. Έτσι, σε μοντέλο μεταμόσχευσης OMA ποντικού (MLL-AF9-driven syngeneic murine AML transplantation model), έγινε εξαλλαγή προγονικών κυττάρων κοκκιδόδου σειράς (committed granulocyte - macrophage progenitors, GMP) σε LSCs, μετά από σταθεροποίηση της β-catenin στον πυρήνα, προσδίδοντας τους την ικανότητα της αυτο-ανανέωσης και της πρόκλησης (propagate) λευχαιμίας⁸.

Λευχαιμία είναι το σύνολο των αιματολογικών κακοηθειών, όπου η διαταραχή συνήθως ξεκινάει από τον μυελό των οστών, με αποτέλεσμα τον αυξημένο αριθμό μη φυσιολογικών λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα⁹. Αυτά τα κύτταρα μπορούν επίσης να διηθήσουν διάφορα όργανα και ιστούς. Οι κύριες κατηγορίες λευχαιμίας είναι η χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ), η οξεία μυελογενής λευχαιμία (ΟΜΛ), η χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (ΧΛΛ) και η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ). Η ΟΜΛ χαρακτηρίζεται από μη φυσιολογική, ταχέως αναπτυσσόμενη μυελική σειρά, που αναπτύσσεται στον μυελό των οστών και στο αίμα, και είναι μια γονιδιακά ετερογενής κλωνική διαταραχή⁹. Το υπεύθυνο κύτταρο για αυτή τη διαταραχή είναι το λευχαιμικό stem cell (leukemia stem cell – LSC)¹⁰. Χαρακτηριστικό της ΟΜΛ είναι οι συχνές υποτροπές της νόσου, παρά την αρχική ύφεση, λόγω λευχαιμικών κυττάρων που παραμένουν στο μυελό. Ο πληθυσμός των LSCs θα μπορούσε να είναι στόχος για νέες αντι-λευχαιμικές θεραπείες,

Εργαστήριο Μελέτης της Αιμοποίησης και Αιματολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής Παν/μίου Κρήτης

Συγγραφέας υπεύθυνος για επικοινωνία: Χαράλαμπος Ποντίκογλου, Επίκουρος Καθηγητής Αιματολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης, Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου, ΤΘ 1352, 71500 Ηράκλειο, Κρήτη, Τηλ.: +30 2810 392427, Fax: +30 2810 392344, E-mail: c.pontikoglou@med.uoc.gr

καθώς η εξάλειψή τους θα μπορούσε να αποτελέσει τη θεραπεία της νόσου και να αποτρέψει πιθανή υποτροπή³.

Χαρακτηρισμός του LSC

Οι πρώτες μελέτες που έγιναν για το χαρακτηρισμό των LSCs έγιναν σε ποντικούς NOD/SCID¹¹ και σε μακρόχρονες καλλιέργειες (long-term cultures) in vitro^{12,13}. Ο χαρακτηρισμός τους έγινε με τη χρήση κυτταρομετρίας ροής, από ποικιλία διαφόρων υποτύπων OMA. Τα LSCs δεν εκφράζουν δείκτες κυτταρικής σειράς (Lineage – Lin⁻), εκφράζουν το δείκτη CD34 (CD34⁺), και δεν εκφράζουν το δείκτη CD38 (CD38⁻). Ωστόσο, σε πειράματα που μελετήθηκαν περιπτώσεις OMA με μεταλλαγμένο το γονίδιο της νουκλεοφωσμίνης (NPM1c), LSCs παρατηρήθηκαν κυρίως στο κλάσμα των CD34⁻ κυττάρων¹⁴. Ο πληθυσμός των CD34⁺ LSC, τα τελευταία χρόνια, χαρακτηρίστηκε εκτενέστερα. Παρατηρήθηκε ότι συνυπάρχουν δύο διακριτοί πληθυσμοί CD34⁺ LSC, ένας πληθυσμός που έχει ομοιότητες με τα φυσιολογικά πολυδύναμα κύτταρα της λεμφικής σειράς (lymphoid-primed multi-potent progenitors, LMPP) τα LMPP-like LSCs (Lin/CD34⁺/CD38⁻/CD90⁺/CD45RA⁺) και τα GMP-like LSCs (Lin/CD34⁺/CD38⁺/CD123⁺/CD45RA⁺), που έχουν ομοιότητες με τα αντίστοιχα κύτταρα των κοκκιοκυττάρων και μακροφάγων (granulocyte-macrophage progenitors, GMP)¹⁵.

Τα HSCs και τα LSCs έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά, ανήκουν και οι δύο πληθυσμοί κυττάρων στα CD34⁺/CD38⁻ κύτταρα. Σε επίπεδο mRNA καθώς και σε πρωτεϊνικό επίπεδο, τα CD34⁺/CD38⁻ LSCs, αλλά όχι τα CD34⁺/CD38⁻ HSCs, εκφράζουν το μόριο κυτταρικής TIM3¹⁶, γεγονός που επιτρέπει το διαχωρισμό των δύο πληθυσμών stem cells σε διάφορες μορφές οξείας μυελογενούς λευχαιμίας¹⁶.

Η ανάγκη χαρακτηρισμού των LSCs γίνεται πλέον επιτακτική, καθώς η πρόγνωση, η ελάχιστη υπολειπόμενη νόσος (minimal residual disease – MRD) και η τελική έκβαση των ασθενών με OMA φαίνεται να σχετίζεται με τον αριθμό των LSCs, κατά τη διάγνωση, στο μυελό των οστών των ασθενών¹⁷. Ο προσδιορισμός του αριθμού των LSCs γίνεται είτε ανοσοφαινοτυπικά είτε με πειράματα ξеноμεταμόσχευσης¹⁷. Σε μελέτες, παρατηρήθηκαν ακόμη και σε ασθενείς που είχαν επιτύχει πλήρη ύφεση, μετά από θεραπεία με αζακυτιδίνη και βαλπροϊκό νάτριο, LMPP και GMP-like LSCs¹⁸.

Αιμοποιητική φωλιά

Τα τελευταία χρόνια έχει επικρατήσει η υπόθεση της αιμοποιητικής «φωλιάς», ως ενός μηχανισμού ρύθμισης των HSCs. Η αιμοποιητική «φωλιά» αντιπροσωπεύει ένα σύνολο κυττάρων, κυτταρικών αλληλεπιδράσεων, καθώς και συστατικών εξωκυττάριας ουσίας³. Περιλαμβάνει κύτ-

ταρα του περι-αγγειακού χώρου, οστεοβλάστες, οστεοκλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, κύτταρα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, ανοσοποιητικά κύτταρα, λιποκύτταρα, και μεγακαρυοκύτταρα³. Κοινό προγονικό κύτταρο, αρκετών κυττάρων της αιμοποιητικής φωλιάς είναι το μεσεγχυματικό στρωματικό κύτταρο (mesenchymal stromal cell – MSC).

Έχουν περιγραφεί δύο διακριτές ανατομικά αιμοποιητικές «φωλιές», η ενδοοστική και η αγγειακή^{19,20} βρίσκονται δίπλα σε αγγειακές δομές, αρτηριόλια και τα κολποειδή του μυελού των οστών. Η αγγειακή φωλιά αποτελείται από ενδοθηλιακά κύτταρα, MSC καθώς και συμπαθητικές νευρικές ίνες, ενώ η ενδοοστική φωλιά από οστεοβλάστες και εντοπίζεται στα κολποειδή του μυελού των οστών²¹. Η υποξία, μέσω της δράσης του HIF1α (Hypoxia Inducible Factor 1α), διατηρεί τα HSCs σε κατάσταση «ηρεμίας», ως πολυδύναμα κύτταρα²², αυξάνοντας την έκφραση του VEGF (vascular endothelial growth factor), και του CXCR4²³.

Η ρύθμιση της εναλλαγής των HSCs μεταξύ κατάστασης ηρεμίας/πολλαπλασιασμού ή παραμονής (anchoring)/κινητοποίησης τους στην αιμοποιητική φωλιά, είναι δυναμική⁷. Η παραμονή των HSCs σε κατάσταση «ηρεμίας», ρυθμίζεται θετικά από εκκρινόμενους παράγοντες της αιμοποιητικής φωλιάς όπως SCF (stem cell factor), TGFβ1 (transforming growth factor beta 1), PF4 (platelet factor 4), angiopoietin1, TPO (thrombopoietin)⁷. Η πρόσδεση και η παραμονή τους στη «φωλιά» επηρεάζεται από μόρια πρόσδεσης όπως VCAM1 (vascular cell adhesion molecule 1), διάφορες selectins, πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας όπως ινωδονεκτίνη, υαλουρονικό οξύ και παραγόντων όπως SDF1/CXCL12 (stromal cell derived factor 1) και του υποδοχέα του CXCR4 (CXC chemokine receptor 4)⁷. Ο πολλαπλασιασμός και η ενεργοποίηση της διαφοροποίησης των HSCs ρυθμίζεται από συνδέτες του μονοπατιού Notch, καθώς και κυτταροκίνες που εκκρίνονται τοπικά όπως interleukin 7 (IL7) ή ερυθροποιητίνη (EPO)⁷.

Λευχαιμική φωλιά - LSC niche

Όπως και με τα HSCs, οι λειτουργίες και η δράση των LSCs, επηρεάζεται από τις αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην «αιμοποιητική φωλιά»²⁴. Η καταστολή της αιμοποίησης ακόμα και σε ασθενείς με χαμηλό φορτίο νόσου, θα μπορούσε να αντανάκλα την καταστροφή της φυσιολογικής αιμοποιητικής «φωλιάς» και τη δημιουργία «λευχαιμικής» φωλιάς²⁵.

Στις αιματολογικές κακοήθειες, έχουν παρατηρηθεί συχνά αλλαγές στην αιμοποιητική «φωλιά», που συμβάλουν στην αυξημένη έκφραση των LSCs⁷, επηρεάζουν την επιβίωση τους μετά από χημειοθεραπεία και την εμφύτευση στο μικροπεριβάλλον τους³. Μελέτες ανέδειξαν

την παρουσία ενός παρεκκλίνοντος μικροπεριβάλλοντος στη λευχαιμογένεση. Στις μελέτες αυτές παρατηρήθηκε αιματολογική κακοήθεια στοχεύοντας σε γονίδια κυττάρων της αιμοποιητικής φωλιάς³ όπως, α) απαλοιφή του υποδοχέα γ του ρετινοϊκού οξέος (Retinoic Acid Receptor gamma – RAR γ)²⁶ στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, β) απαλοιφή της Dicer-1 σε προγονικά κύτταρα της οστικής σειράς (osteoprogenitors) που εξέφραζαν την πρωτεΐνη osterix²⁷, γ) καθώς και μετάλλαξη της β -catenin σε οστεοβλάστες, σε συνδυασμό με την ενεργοποίηση του μονοπατιού Notch, μέσω υπερέκφρασης της Jagged-1²⁸. Μεταλλάξεις σε γονίδια, που συμμετέχουν σε σηματοδοτικά μονοπάτια, όπως *JAK2*, *RAS*, *FLT3*, *KIT*, έχουν περιγραφεί σε κακοήθειες της μυελικής σειράς²⁹. Οι μεταλλάξεις αυτές επιδρούν τόσο στην ανάπτυξη των LSCs, όσο και στο πώς επηρεάζονται τα LSCs και οι απόγονοί τους από ερεθίσματα του μικροπεριβάλλοντος⁷.

Σε μοντέλα OMA ποντικών, σε σύγκριση με τα HSCs, τα LSCs δεν επηρεάζονται από σηματοδοτικά μονοπάτια, που συμμετέχουν στην επιβίωση, πολλαπλασιασμό και πρόσδεση (anchoring) στην αιμοποιητική φωλιά, όπως Notch και TGF β ³⁰. Αντίθετα, τα LSCs παρατηρήθηκε να εξαρτώνται περισσότερο από μόρια πρόσδεσης όπως το CD44 και διάφορες selectins για την εγκατάσταση και εμφύτευση στο μυελό των οστών, σε σύγκριση με τα HSCs³¹.

Σηματοδοτικά μονοπάτια

Διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια εμπλέκονται στις αλληλεπιδράσεις των LSCs με το μικροπεριβάλλον τους, ρυθμίζοντας παραμέτρους όπως η επιβίωση και η αυτο-ανανέωση των LSCs⁹.

Το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt, υπερεκφράζεται στην AML³², είναι απαραίτητο για την αυτο-ανανέωση των LSCs, που προέρχονται είτε από HSCs, είτε από απόγονους τους⁹. Οι galectin, συγκεκριμένα οι galectin 3, galectin 9 και Tim-3 (υποδοχέας της galectin 9), φαίνεται να συμβάλουν στην αλληλεπίδραση της αιμοποιητικής «φωλιάς» με τα LSCs, μέσω της β -catenin³³⁻³⁵. Η galectin 3 αυξάνει τα πυρηνικά επίπεδα της β -catenin, ενεργοποιεί το κανονικό μονοπάτι Wnt, αυξάνοντας τη χημειοανθεκτικότητα των LSCs³³. Η galectin 9 και ο υποδοχέας της Tim-3, ο οποίος εκφράζεται μόνο στα LSCs αρκετών τύπων OMA, και όχι στα HSCs, ενεργοποιούν το μονοπάτι του NF- κ B και της β -catenin, αυξάνοντας την αυτο-ανανέωση των LSCs³⁵.

Σε κύτταρα που είχαν απομονωθεί από ασθενείς με λευχαιμία, παρατηρήθηκε απορρύθμιση της οικογενείας των γονιδίων Hox³⁶. Η ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων Hox, γίνεται από τα ανωδικά (upstream) γονίδια (caudal type homeobox genes – Cdx) Cdx1, Cdx2, Cdx4, τα οποία εμπλέκονται στο μονοπάτι Wnt και BMP (bone

morphogenic protein)³⁷. Ανώμαλη έκφραση του Cdx2, έχει παρατηρηθεί στους περισσότερους ασθενείς με OMA³⁸, ενώ υπερέκφραση των γονιδίων Hox έχει παρατηρηθεί κυρίως στις OMA που έχουν τη διαμετάθεση MLL³⁹. Ο ρόλος της οικογενείας των γονιδίων Hox, στη λευχαιμογένεση και στη ρύθμιση των LSCs, χρήζει περαιτέρω διερεύνησης, καθώς θα μπορούσε να αποτελέσει μελλοντικό θεραπευτικό στόχο⁹.

Το μονοπάτι PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase)/AKT (protein kinase B)/mTOR (mammalian target of rapamycin) (PI3K/AKT/mTOR), αυξάνει την ανθεκτικότητα των LSCs σε χημειοθεραπευτικά φάρμακα, και ενεργοποιείται μέσω της διακυτταρικής επαφής των LSCs με τα MSCs⁴⁰. Ωστόσο, η χρήση του σαν πιθανό θεραπευτικό στόχο, φέρει περιορισμούς καθώς εκφράζεται και είναι πολύ σημαντικό για την επιβίωση και μη λευχαιμικών κυττάρων όπως τα MSCs⁴¹.

LSCs και μικροπεριβάλλον

Η αλληλεπίδραση του μικροπεριβάλλοντος με τα LSCs είναι αμφίδρομη. Πρόσφατη μελέτη ανέδειξε ότι τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι ικανά να αναδιαμορφώσουν την αιμοποιητική φωλιά σε αυτο-ενισχυόμενη (self-reinforcing) λευχαιμική φωλιά⁴², που έχει ως αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό των λευχαιμικών κυττάρων και συνάμα τη μείωση των HSCs. Μόρια στόχοι των LSCs είναι τα CXCL12 και E-selectin, απαραίτητα μόρια για την εγκατάσταση των υγιών HSCs στην αιμοποιητική φωλιά⁴³. Είναι αξιοσημείωτο ότι MSCs ασθενών με OMA παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση του CXCL12⁴⁴. Σε μοντέλο μεταμόσχευσης OMA ποντικού (MLL-AF9-driven syngeneic murine AML transplantation model), παρατηρήθηκαν νευροπαθητικές αλλαγές στην αιμοποιητική «φωλιά», μέσω καταστροφής νευρικών κυττάρων από τα LSCs⁴⁵, επηρεάζοντας αρνητικά την ενεργότητα των περι-αγγειακών MSCs και εν γένει τη λειτουργία της «φωλιάς»⁷.

Επίσης, τα LSCs παρατηρήθηκε να οδηγούν έμμεσα σε αύξηση του πολλαπλασιασμού των HSCs, αυξάνοντας τον αριθμό των κυττάρων που θα μπορούσαν δυνητικά να αποκτήσουν μεταλλάξεις⁴⁶. Από συν-καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων (endothelial cells – EC) με κύτταρα OMA, παρατηρήθηκε ότι τα κύτταρα της OMA παράγουν προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως TNF α (tumor necrosis factor α), IL-6 (interleukin-6), IL-1 (interleukin-1), με αποτέλεσμα την παραγωγή αυξητικών παραγόντων G-CSF (granulocyte – colony stimulating factor) και GM-CSF (granulocyte/macrophage colony stimulating factor) από τα EC⁷.

Μελέτες σε ποντικούς, ανέδειξαν γενετικές βλάβες σε κύτταρα της αιμοποιητικής φωλιάς ικανές να συμβάλλουν ή/και να προκαλούν κακοήθειες της μυελικής σειράς⁷. Το

κύριο ερώτημα που τίθεται είναι εάν αυτές οι αλλαγές στην αιμοποιητική φωλιά θα μπορούσαν να προκαλέσουν νόσο σε ανθρώπους. Σε μελέτη οστεομυελικών βιοψιών ασθενών με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ), ΟΜΑ ή ΜΔΣ που εξετράπη σε ΟΜΑ, παρατηρήθηκε αυξημένη πυρηνική έκφραση β-catenin σε κύτταρα οστεβλαστικής σειράς που εκφράζουν Runx2, εύρημα που συσχετίζεται με αυξημένη ενεργότητα του Notch στα CD34⁺ αρχέγονα αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα²⁸. Ωστόσο, σε ex vivo κυτταρικές καλλιέργειες, σε κυτταρικούς πληθυσμούς ασθενών με μυελικές κακοήθειες ανευρέθησαν γενετικές αλλαγές, διαφορετικές από τις driver μεταλλάξεις του λευχαιμικού κλώνου⁴⁷. Υποστηρίζοντας περαιτέρω την υπόθεση ότι οι γενετικές αλλαγές στο αιμοποιητικό μικροπεριβάλλον είναι ανεξάρτητο γεγονός κατά τη διάρκεια της νόσου⁷.

Στοχεύοντας τα LSCs

Όπως τα HSCs, τα LSCs φαίνεται να εντοπίζονται σε συγκεκριμένες περιοχές του μυελού των οστών⁴⁸, κυρίως στην ενδοοστική και αγγειακή «φωλιά», που τα καθιστούν ανθεκτικά στη χημειοθεραπεία. Η ελάχιστη υπολειπόμενη νόσος (Minimal Residual Disease – MRD) στην ΟΜΑ, στοχεύοντας την αιμοποιητική φωλιά έχει εγείρει το ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια⁴⁹. LSCs που έχουν συνκαλλιεργηθεί με στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών, φαίνεται να είναι ανθεκτικά σε χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Πιθανά, εμπλέκονται μηχανισμοί που ρυθμίζονται από τα στρωματικά κύτταρα, ώστε να αποφεύγουν την απόπτωση και να παραμένουν σε κατάσταση «ηρεμίας», τόσο τα LSCs, όσο και οι απόγονοι τους⁷. Θεραπευτικό στόχο αποτελούν παράγοντες που απομακρύνουν τα LSCs και τους απογόνους τους από τη «φωλιά», με αποτέλεσμα να αυξάνεται η θανάτωση τους⁷.

Μελέτες ανέδειξαν ότι η απομάκρυνση των LSCs από το «προστατευτικό μικροπεριβάλλον» τους, μέσω χορήγησης G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor), θα μπορούσε να αυξήσει την επιτυχία της θεραπείας μακρόχρονα, καθιστώντας τα πιθανά, ευαίσθητα στη θεραπεία³.

Τα LSCs παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση του CXCR4. Αναστέλλοντας την αλληλεπίδραση CXCL12 (SDF1) και CXCR4 στην αιμοποιητική φωλιά, με τη χρήση αναστολέων του CXCR4 (plerixafor AMD3100), θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί θεραπευτικά, καθώς φαίνεται να τα καθιστά ευαίσθητα στη χημειοθεραπεία^{50, 51}. Η αποτελεσματικότητα των αναστολέων του CXCR4 αυξάνεται περαιτέρω με χρήση αδρανοποιητικών αντισωμάτων έναντι του TGFβ⁵². Σε τρέχουσες κλινικές μελέτες, μελετάται η δράση του plerixafor, ή άλλων φαρμάκων που στοχεύουν την αλληλεπίδραση CXCL12-CXCR4, είτε ως μονοθεραπεία, είτε σε συνδυασμό με G-CSF, προκειμένου να καταστήσουν τα LSCs περισσότερο ευάλωτα σε συμβατικές χημειοθεραπείες, αφ' ενός κατά τη διάγνωση, αφ' ετέρου κατά την υποτροπή⁷. Η αδρανοποίηση του CD44, μορίου πρόσδεσης των LSCs, με χρήση μονοκλωνικού αντισώματος (anti-CD44v6 – Bivatuzumab, έχει εγκριθεί από τον FDA), θα μπορούσε να αποτελέσει στοχευμένη θεραπεία έναντι των LSCs της ΟΜΑ⁵³. Επιπρόσθετα, τα LSCs αποκτούν χημειοανθεκτικότητα μέσω της αλληλεπίδρασης του VCAM1 με το σύμπλοκο VLA4 (α4β1-integrin very large antigen 4 complex)⁴⁰. Αυτή η αλληλεπίδραση θα μπορούσε να παρεμποδιστεί με τη χρήση του Natalizumab (έχει εγκριθεί από τον FDA). Πρόκειται για ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει τις α4-integrin, αE-integrin και χρησιμοποιείται σε υποτροπιάζουσα σκλήρυνση κατά πλάκας, στη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου⁷. Τέλος, στόχο θα μπορούσε να αποτελέσει ακόμα και ο ίδιος ο VCAM1, για τον οποίο αναπτύσσονται ειδικοί μικρομοριακοί αναστολείς⁴⁰.

Επίλογος

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ μικροπεριβάλλοντος και LSCs θα μπορούσαν να αποτελέσουν υπονήφιους θεραπευτικούς στόχους, σηματοδοτικά μονοπάτια του μικροπεριβάλλοντος επηρεάζουν τα LSCs. Τα LSCs φαίνεται να αναδιαμορφώνουν την αιμοποιητική φωλιά, για να μετατραπεί σε υποστηρικτικό μικροπεριβάλλον για την ανάπτυξη τους³.

Leukemic stem cells

by Konstantia Pavlaki, Haralampos Pontikoglou

*Haemopoiesis Research Laboratory, Haematology Department, School of Medicine
University of Crete, Greece*

ABSTRACT: Leukemic stem cells (LSCs) represent a subpopulation of leukemic cells that are capable of generating and perpetuating disease. In the present review, various cellular and molecular characteristics of LSCs that play a major role in their survival will be discussed, including intrinsic signaling pathways and extrinsic microenvironmental cues. Dynamic interactions between LSCs and microenvi-

ronment components resulting in the former evading chemotherapy-induced death and acquiring a drug-resistant phenotype will be outlined and potential targeted therapies specifically designed to disrupt the complex interplay between the leukemic niche and LSCs will be described.

Βιβλιογραφία

- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144:646-674.
- Tan BT, Park CY, Ailles LE, Weissman IL. The cancer stem cell hypothesis: a work in progress. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2006;86:1203-1207.
- Reinisch A, Chan SM, Thomas D, Majeti R. Biology and clinical relevance of acute myeloid leukemia stem cells. *Seminars in Hematology*. 2015;52:150-164.
- Zhang PY, Yang YJ, Fu CM, Xiang LL, Wang Q, Li XL. Pathways involved in the evolution of leukemic stem cells. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2015;19:1356-1363.
- Lane SW, Gilliland DG. Leukemia stem cells. *Seminars in cancer biology*. 2010;20:71-76.
- Konopleva MY, Jordan CT. Leukemia stem cells and micro-environment: biology and therapeutic targeting. *Journal of clinical oncology. Official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29:591-599.
- Schepers K, Campbell TB, Passegue E. Normal and leukemic stem cell niches: insights and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell*. 2015;16:254-267.
- Wang Y, Krivtsov AV, Sinha AU, North TE, Goessling W, Feng Z, et al. The Wnt/beta-catenin pathway is required for the development of leukemia stem cells in AML. *Science*. 2010;327:1650-1653.
- Hu Y, Li S. Survival regulation of leukemia stem cells. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. 2016;73:1039-1050.
- Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*. 1994;367:645-648.
- Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Medicine*. 1997;3:730-737.
- Ailles LE, Gerhard B, Hogge DE. Detection and characterization of primitive malignant and normal progenitors in patients with acute myelogenous leukemia using long-term coculture with supportive feeder layers and cytokines. *Blood*. 1997;90:2555-2564.
- Blair A, Hogge DE, Ailles LE, Lansdorp PM, Sutherland HJ. Lack of expression of Thy-1 (CD90) on acute myeloid leukemia cells with long-term proliferative ability in vitro and in vivo. *Blood*. 1997;89:3104-3112.
- Taussig DC, Vargaftig J, Miraki-Moud F, Griessinger E, Sharrock K, Luke T, et al. Leukemia-initiating cells from some acute myeloid leukemia patients with mutated nucleophosmin reside in the CD34(-) fraction. *Blood*. 2010;115:1976-1984.
- Goardon N, Marchi E, Atzberger A, Quek L, Schuh A, Soneji S, et al. Coexistence of LMPP-like and GMP-like leukemia stem cells in acute myeloid leukemia. *Cancer cell*. 2011;19:138-152.
- Jan M, Chao MP, Cha AC, Alizadeh AA, Gentles AJ, Weissman IL, et al. Prospective separation of normal and leukemic stem cells based on differential expression of TIM3, a human acute myeloid leukemia stem cell marker. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108:5009-5014.
- van Rhenen A, Feller N, Kelder A, Westra AH, Rombouts E, Zweegman S, et al. High stem cell frequency in acute myeloid leukemia at diagnosis predicts high minimal residual disease and poor survival. *Clinical cancer research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*. 2005;11:6520-6527.
- Craddock C, Quek L, Goardon N, Freeman S, Siddique S, Raghavan M, et al. Azacitidine fails to eradicate leukemic stem/progenitor cell populations in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *Leukemia*. 2013;27:1028-1036.
- Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, Weber JM, Olson DP, Knight MC, et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature*. 2003;425:841-846.
- Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, Morrison SJ. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature*. 2012;481:457-462.
- Kunisaki Y, Bruns I, Scheiermann C, Ahmed J, Pinho S, Zhang D, et al. Arteriolar niches maintain haematopoietic stem cell quiescence. *Nature*. 2013;502:637-643.
- Semenza GL. Oxygen-dependent regulation of mitochondrial respiration by hypoxia-inducible factor 1. *The Biochemical Journal*. 2007;405:1-9.
- Takubo K, Goda N, Yamada W, Iriuchishima H, Ikeda E, Kubota Y, et al. Regulation of the HIF-1alpha level is essential for hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell*. 2010;7:391-402.
- Tabe Y, Konopleva M. Role of microenvironment in resistance to therapy in AML. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 2015;10:96-103.
- Colmone A, Amorim M, Pontier AL, Wang S, Jablonski E, Sipkins DA. Leukemic cells create bone marrow niches that disrupt the behavior of normal hematopoietic progenitor cells. *Science*. 2008;322:1861-1865.
- Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S, Fabb SA, Swann J, McArthur GA, et al. A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. *Cell*. 2007;129:1097-1110.
- Raaijmakers MH, Mukherjee S, Guo S, Zhang S, Kobayashi T, Schoonmaker JA, et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia. *Nature*. 2010;464:852-857.

28. Kode A, Manavalan JS, Mosialou I, Bhagat G, Rathinam CV, Luo N, et al. Leukaemogenesis induced by an activating beta-catenin mutation in osteoblasts. *Nature*. 2014;506:240-254.
29. Milosevic JD, Kralovics R. Genetic and epigenetic alterations of myeloproliferative disorders. *International Journal of Hematology*. 2013;97:183-197.
30. Santaguida M, Schepers K, King B, Sabnis AJ, Forsberg EC, Attema JL, et al. JunB protects against myeloid malignancies by limiting hematopoietic stem cell proliferation and differentiation without affecting self-renewal. *Cancer Cell*. 2009;15:341-352.
31. Krause DS, Lazarides K, Lewis JB, von Andrian UH, Van Etten RA. Selectins and their ligands are required for homing and engraftment of BCR-ABL1+ leukemic stem cells in the bone marrow niche. *Blood*. 2014;123:1361-1371.
32. Jeannot G, Scheller M, Scarpellino L, Duboux S, Gardiol N, Back J, et al. Long-term, multilineage hematopoiesis occurs in the combined absence of beta-catenin and gamma-catenin. *Blood*. 2008;111:142-149.
33. Hu K, Gu Y, Lou L, Liu L, Hu Y, Wang B, et al. Galectin-3 mediates bone marrow microenvironment-induced drug resistance in acute leukemia cells via Wnt/beta-catenin signaling pathway. *Journal of Hematology & Oncology*. 2015;8:1.
34. Yamamoto-Sugitani M, Kuroda J, Ashihara E, Nagoshi H, Kobayashi T, Matsumoto Y, et al. Galectin-3 (Gal-3) induced by leukemia microenvironment promotes drug resistance and bone marrow lodgment in chronic myelogenous leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108:17468-17473.
35. Kikushige Y, Miyamoto T, Yuda J, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Shima T, Takayanagi S, et al. A TIM-3/Gal-9 autocrine stimulatory loop drives self-renewal of human myeloid leukemia stem cells and leukemic progression. *Cell Stem Cell*. 2015;17:341-352.
36. Argiropoulos B, Humphries RK. Hox genes in hematopoiesis and leukemogenesis. *Oncogene*. 2007;26:6766-6776.
37. Lengerke C, Schmitt S, Bowman TV, Jang IH, Maouche-Chretien L, McKinney-Freeman S, et al. BMP and Wnt specify hematopoietic fate by activation of the Cdx-Hox pathway. *Cell Stem Cell*. 2008;2:72-82.
38. Scholl C, Bansal D, Dohner K, Eiwen K, Huntly BJ, Lee BH, et al. The homeobox gene CDX2 is aberrantly expressed in most cases of acute myeloid leukemia and promotes leukemogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007;117:1037-1048.
39. Valent P, Sadovnik I, Racil Z, Herrmann H, Blatt K, Cerny-Reiterer S, et al. DPPIV (CD26) as a novel stem cell marker in Ph+ chronic myeloid leukaemia. *European Journal of Clinical Investigation*. 2014;44:1239-1245.
40. Jacamo R, Chen Y, Wang Z, Ma W, Zhang M, Spaeth EL, et al. Reciprocal leukemia-stroma VCAM-1/VLA-4-dependent activation of NF-kappaB mediates chemoresistance. *Blood*. 2014;123:2691-2702.
41. Brenner AK, Andersson Tvedt TH, Bruserud Ø. The complexity of targeting PI3K-Akt-mTOR signalling in human acute myeloid leukaemia: The importance of leukemic cell heterogeneity, neighbouring mesenchymal stem cells and immunocompetent cells. *Molecules*. 2016;21:1512; doi:10.3390/molecules21111512.
42. Schepers K, Pietras EM, Reynaud D, Flach J, Binnewies M, Garg T, et al. Myeloproliferative neoplasia remodels the endosteal bone marrow niche into a self-reinforcing leukemic niche. *Cell stem cell*. 2013;13:285-299.
43. Sipkins DA, Wei X, Wu JW, Runnels JM, Côté D, Means TK, et al. In vivo imaging of specialized bone marrow endothelial microdomains for tumour engraftment. *Nature*. 2005;435:969-973.
44. Ge J, Hou R, Liu Q, Zhu R, Liu K. Stromal-derived factor-1 deficiency in the bone marrow of acute myeloid leukemia. *International journal of hematology*. 2011;93:750-759.
45. Hanoun M, Zhang D, Mizoguchi T, Pinho S, Pierce H, Kunisaki Y, et al. Acute myelogenous leukemia-induced sympathetic neuropathy promotes malignancy in an altered hematopoietic stem cell niche. *Cell Stem Cell*. 2014;15:365-375.
46. Arranz L, Sanchez-Aguilera A, Martin-Perez D, Isern J, Langa X, Tzankov A, et al. Neuropathy of haematopoietic stem cell niche is essential for myeloproliferative neoplasms. *Nature*. 2014;512:78-81.
47. Kastrinaki MC, Pavlaki K, Batsali AK, Kouvidi E, Mavroudi I, Pontikoglou C, et al. Mesenchymal stem cells in immune-mediated bone marrow failure syndromes. *Clinical & Developmental Immunology*. 2013;2013:265608.
48. Ninomiya M, Abe A, Katsumi A, Xu J, Ito M, Arai F, et al. Homing, proliferation and survival sites of human leukemia cells in vivo in immunodeficient mice. *Leukemia*. 2007;21:136-142.
49. Nair RR, Tolentino J, Hazlehurst LA. The bone marrow microenvironment as a sanctuary for minimal residual disease in CML. *Biochemical Pharmacology*. 2010;80:602-612.
50. Zeng Z, Shi YX, Samudio IJ, Wang RY, Ling X, Frolova O, et al. Targeting the leukemia microenvironment by CXCR4 inhibition overcomes resistance to kinase inhibitors and chemotherapy in AML. *Blood*. 2009;113:6215-6224.
51. Nervi B, Ramirez P, Rettig MP, Uy GL, Holt MS, Ritchey JK, et al. Chemosensitization of acute myeloid leukemia (AML) following mobilization by the CXCR4 antagonist AMD3100. *Blood*. 2009;113:6206-6214.
52. Tabe Y, Shi YX, Zeng Z, Jin L, Shikami M, Hatanaka Y, et al. TGF-beta-neutralizing antibody 1D11 enhances cytarabine-induced apoptosis in AML cells in the bone marrow microenvironment. *PloS One*. 2013;8:e62785.
53. Jin L, Hope KJ, Zhai Q, Smadja-Joffe F, Dick JE. Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells. *Nature Medicine*. 2006;12:1167-1174.