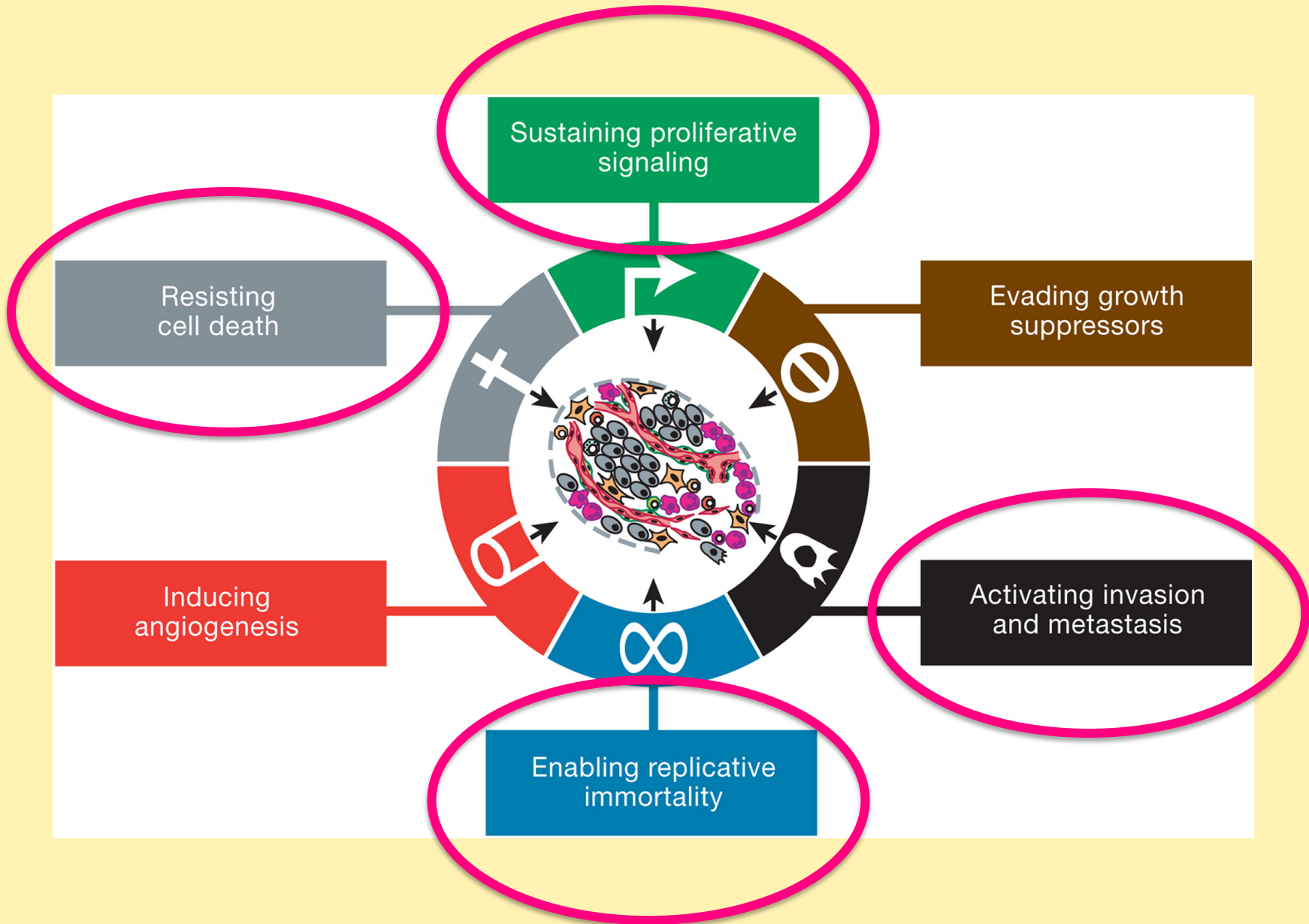


Corso di Oncologia Molecolare

AA 2019-2020

CELLULE STAMINALI DEL CANCRO (CSC)

**Alessandra Rustighi
Laboratorio Nazionale CIB
Area Science Park
040 3756800
alessandra.rustighi@incib.it**



Hanahan and Weinberg, 2011

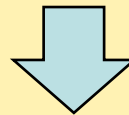
Le cellule staminali del cancro (CSC)

DOMANDE:

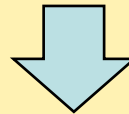
SVILUPPO DI UN TUMORE > TUMORIGENICITA'

PROGRESSIONE TUMORALE, METASTATIZZAZIONE

FALLIMENTI DELLE CHEMIO O RADIOTERAPIE >> RECIDIVE



NON TUTTE LE CELLULE DI UN TUMORE SONO UGUALI

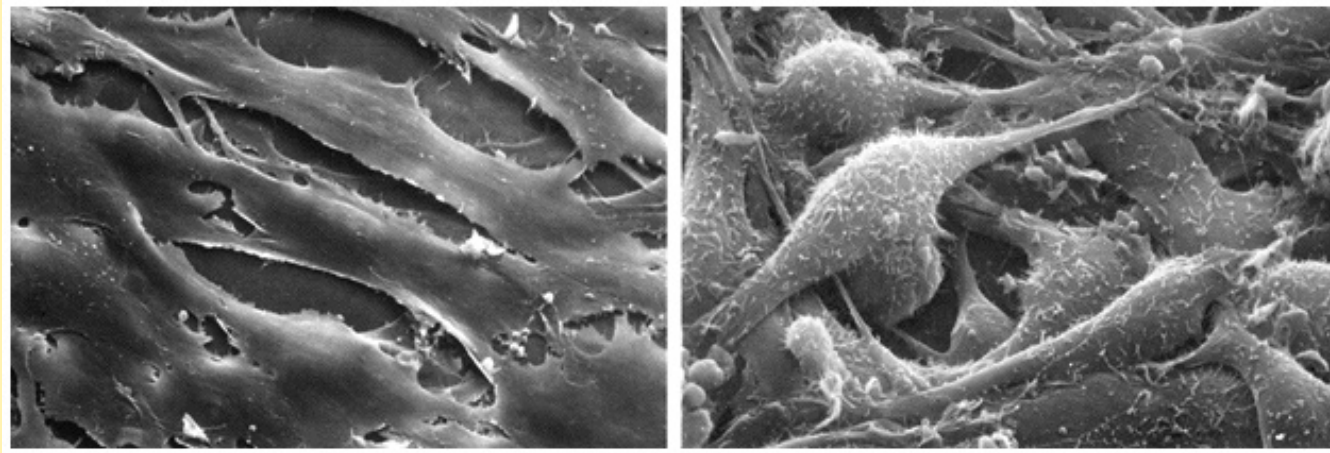


QUALI CELLULE DEVONO ESSERE COLPITE DALLE TERAPIE ANTI-TUMORALI?

QUALI SONO LE CARATTERISTICHE DELLE CSC?

COME SI STUDIANO LE CSC?

Eterogeneità dei tumori : La principale causa del fallimento delle terapie anti-tumorali



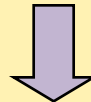
Cellula normale → → Cellula tumorale → → Cellula carcinomatosa

Tumori con la stessa diagnosi (classificazione) non sempre rispondono allo stesso modo ad una terapia

Classificazione istopatologica:

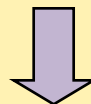
Luminale A
Luminale B
Her2+
TNBC
Grado I-III
Stadio TNM

COMPLESSITA' INTRINSECHE



DIVERSITA' CLONALE

PLASTICITA' TUMORALE

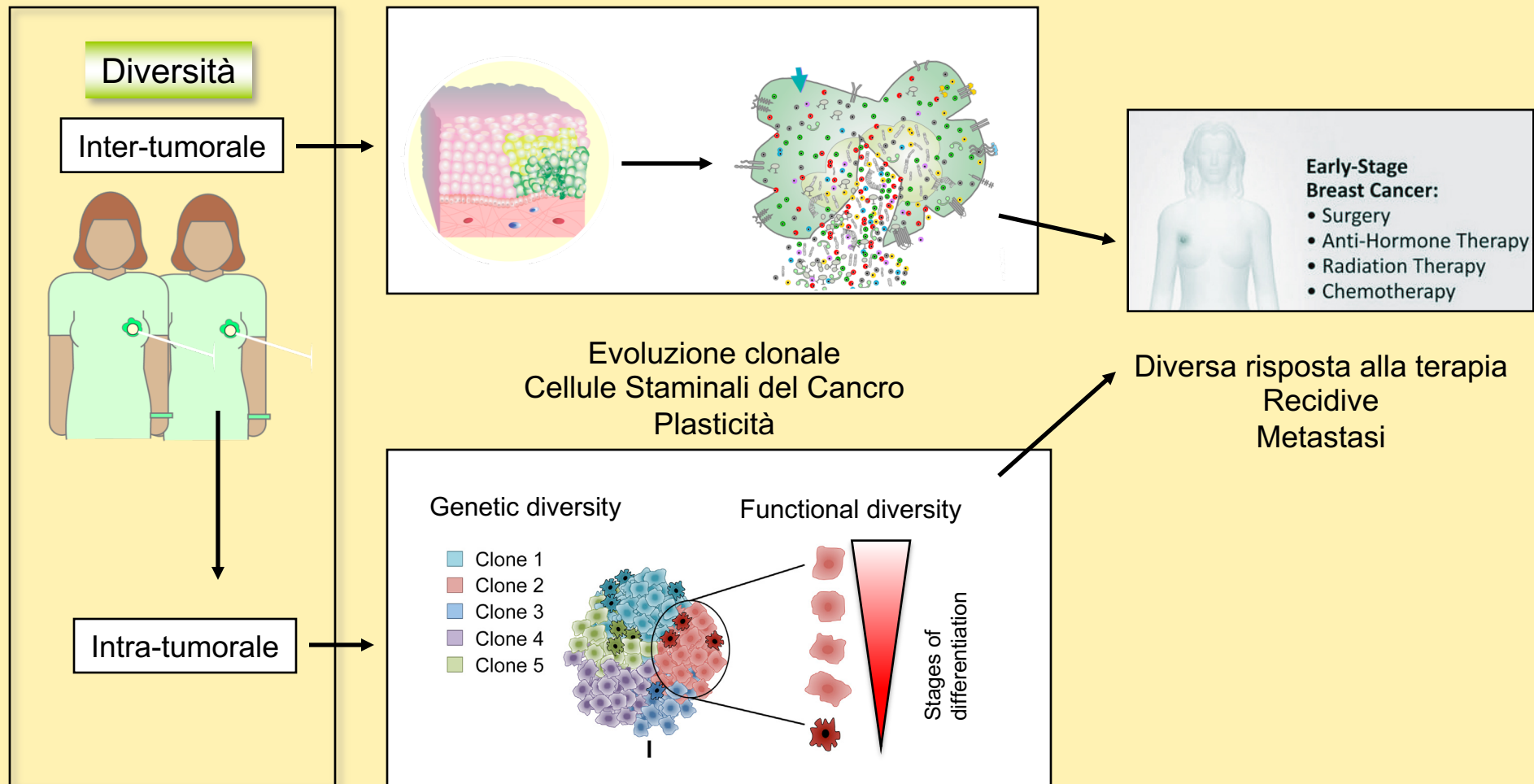


ETEROGENEITA'

Livello molecolare:

- Diversità genetiche (polimorfismi etc.)
- Mutazioni genetiche
- Alterazioni epigenetiche;
 - Interazioni col microambiente
 - Metabolismo, etc.

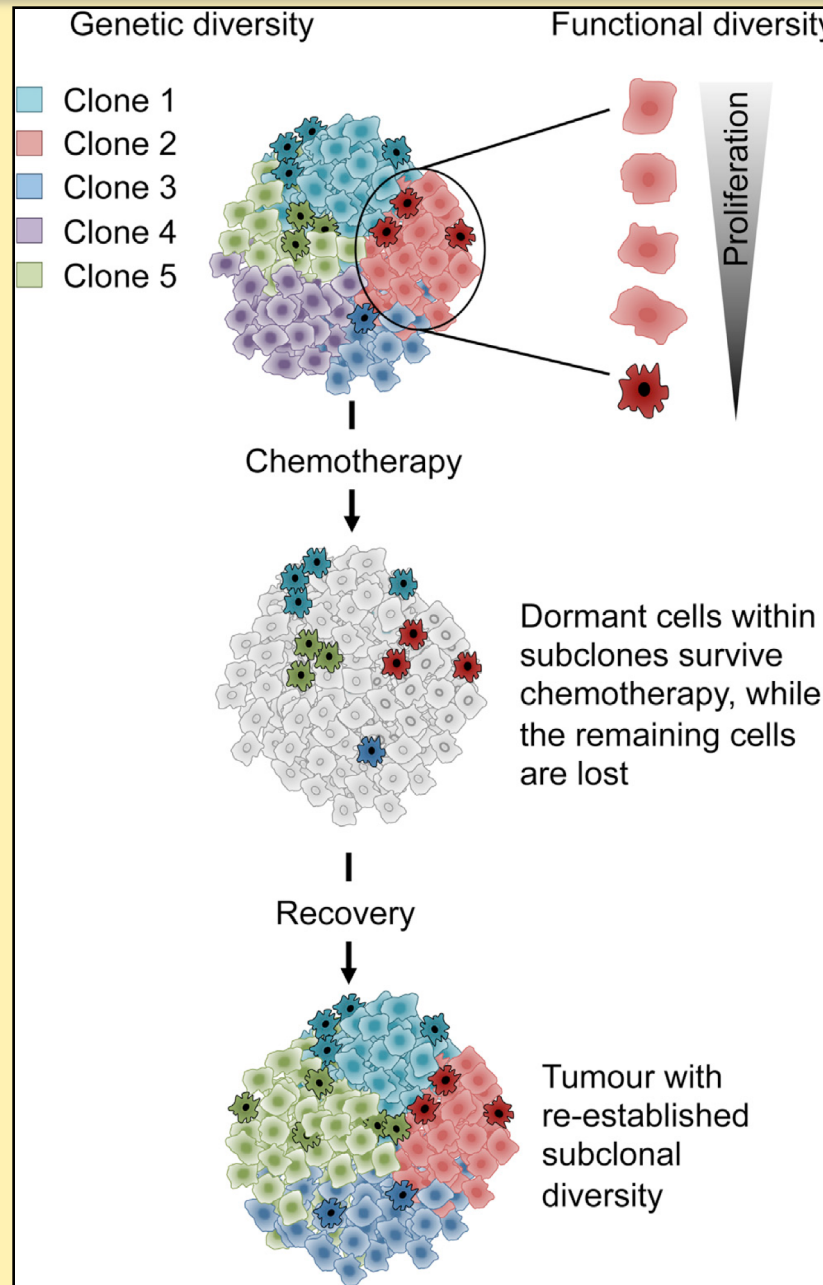
Eterogeneità inter- ed intra-tumorale: cause e conseguenze



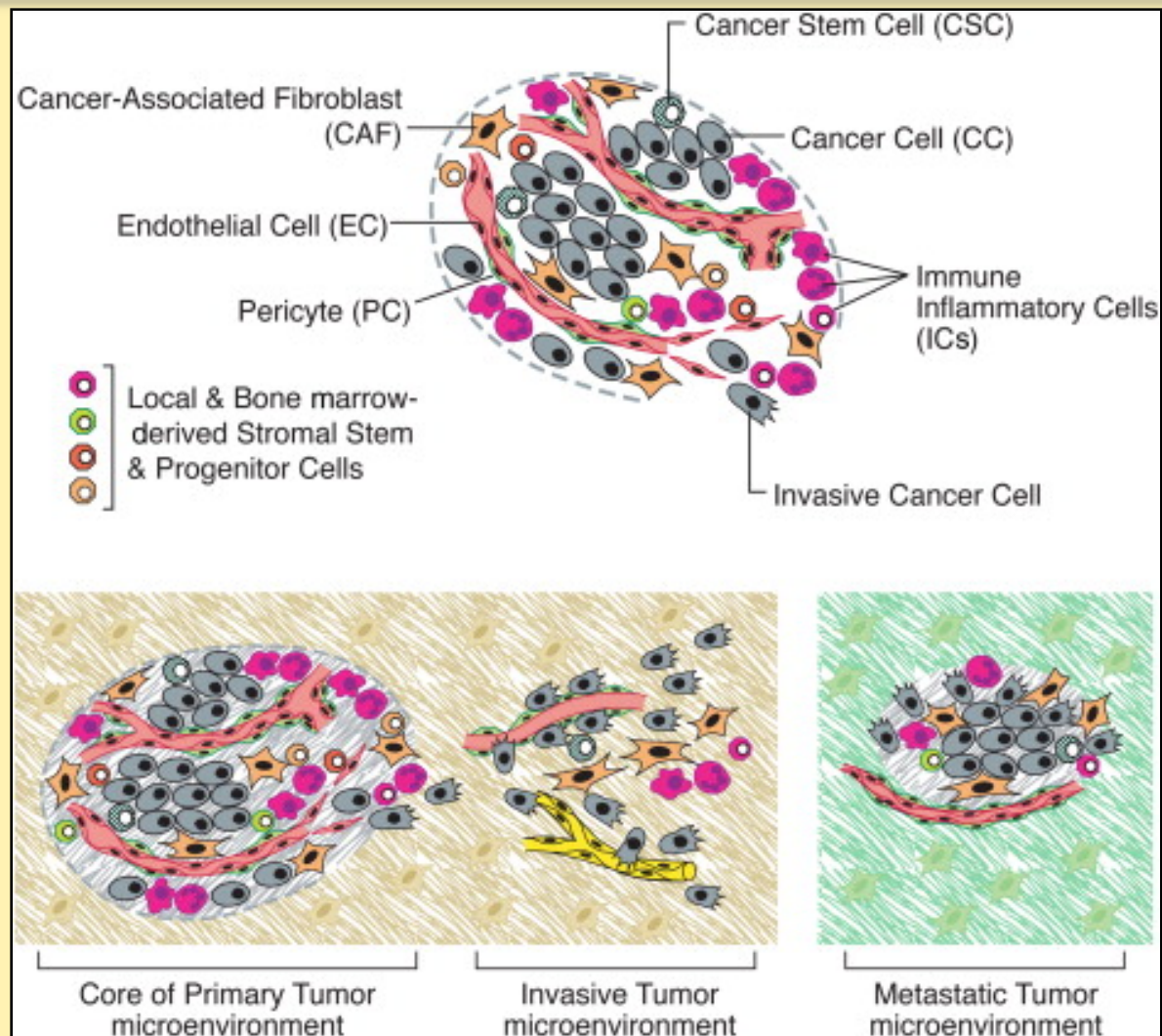
Eterogeneità intra-tumorale : subcloni nello stesso tumore, gerarchia funzionale

Diversità genetica

Diversità funzionali



Tumori come organi: eterogeneità intra-tumorale



Non ogni cellula in un organo (o cancro) ha la stessa sensibilità ai trattamenti e lo stesso potenziale di dare origine ad una progenie

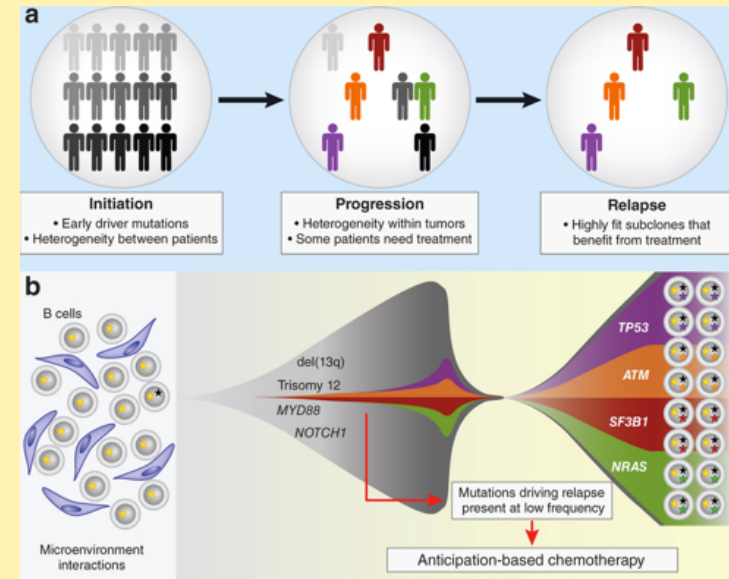
Problematiche per la diagnosi e cura dei tumori: eterogeneità inter- ed intratumorale

Eterogeneità inter-tumorale (tra tumori simili di pazienti diversi)

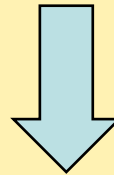
- Molecolare
- Fenotipica, p.es. Risposta alla terapie

Eterogeneità intra-tumorale (all'interno dello stesso tumore)

- Genetica: Diversi cloni
- Gerarchica: Presenza di cellule staminali del cancro
- Epigenetica: Plasticità delle cellule tumorali
- Effetti del microambiente
- Progressione tumorale, p.es. selezione



Puente & Lopez-Otin, Nat Genetics 2013



Qual' è la cellula d'origine del tumore/metastasi?

Qual' è la mutazione dalla quale il tumore dipende?

Quali sono le alterazioni che avvengono durante la progressione tumorale?

Analisi retrospettive: come hanno reagito certi tipi di tumori a determinate cure e perché?

Cancer Stem Cell [CSC] Characteristics

- Minor population in tumor : 0.1 - a few percent
- Self-renewing; infinite proliferative potential.
- Enhanced resistance to drugs, radiation, cell stress.
- Tumorigenic; give rise to other cell types in tumor.
- Associated with **metastasis** and **relapse**.



Strategies to eradicate CSCs are an urgent topic in cancer research

Definizione e proprietà delle cellule staminali

Principale proprietà:

riprodurre se stesse e contemporaneamente dare origine a cellule specializzate

Auto-rinnovamento o “self-renewal”:

Capacità di effettuare molteplici cicli riproduttivi senza perdere la propria identità

differenziamento

cellule staminali

embrionali (ES)

adulte

tumorali

indotte

Cellule staminali e loro proprietà

M. Bosnali et al.

Potency	Example	Developmental potential
Totipotent	Fertilized oocyte	Can give rise to both embryonic and extraembryonic tissues
Pluripotent	ES cell	Can give rise to every cell type of the body
Multipotent	Hematopoietic stem cell	Can give rise to a certain limited number of cell types
Unipotent	Spermatogonial stem cell	Can give rise to a single cell type only

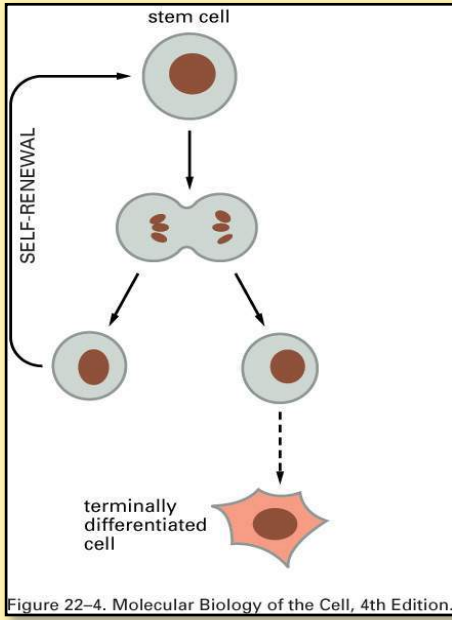
Cellule staminali embrionali

Totipotenti (da embrioni precoci)
Pluripotenti (dalla blastociste)
Self-renewal
Proliferative potential

Cellule staminali somatiche

Cellule staminali tissutali:
Cellule indifferenziate con proprietà seguenti:

- Multipotenza
- Capacità di auto-rinnovamento
- Abilità di riparare il tessuto danneggiato
- Potenziale proliferativo
- HSC, Fegato, Intestino, Ghiandola mammaria, Testicolo, Muscolo scheletrico, Pelle, Follicoli piliferi, Miocardio, Cresta neurale



Indifferenziate
non hanno un "orologio" interno per differenziarsi, serve un programma epigenetico per differenziarsi.

Capacità di autorinnovamento (Self-renewal)

Alto potenziale proliferativo
non necessariamente proliferanti!!

Quiescenti
(unica eccezione: le ES)

iPS
Cellule staminali pluripotenti indotte

Cellule somatiche riprogrammate

Cellule staminali del cancro

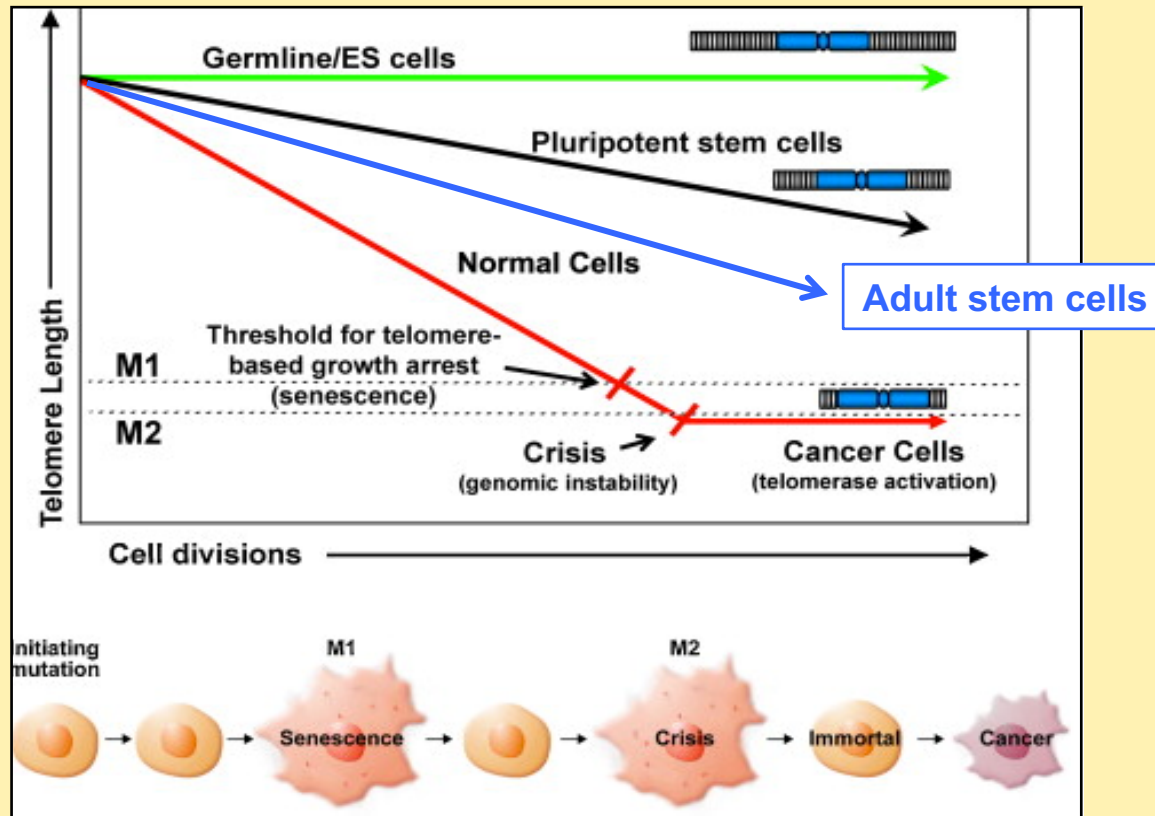
Auto-rinnovamento
Potenziale proliferativo

Domande:

- Quale mutazione?
- Quale cellula?

Figure 22-4. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Cellule staminali hanno la telomerasi attivata

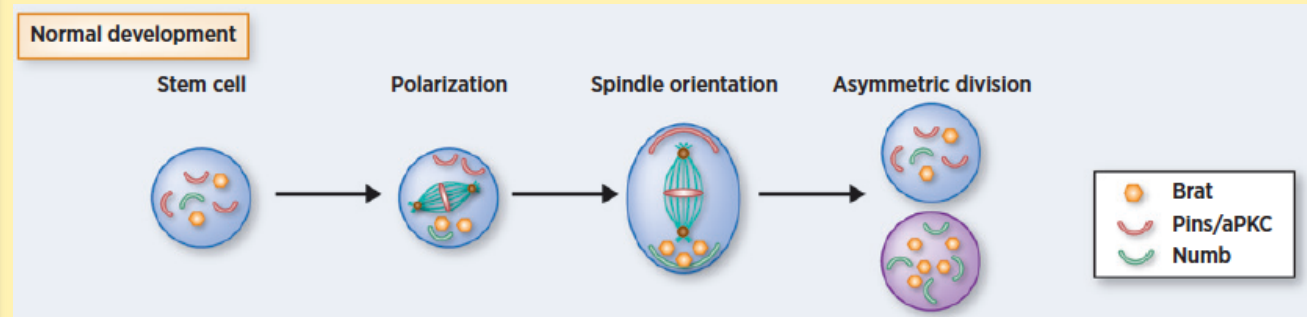
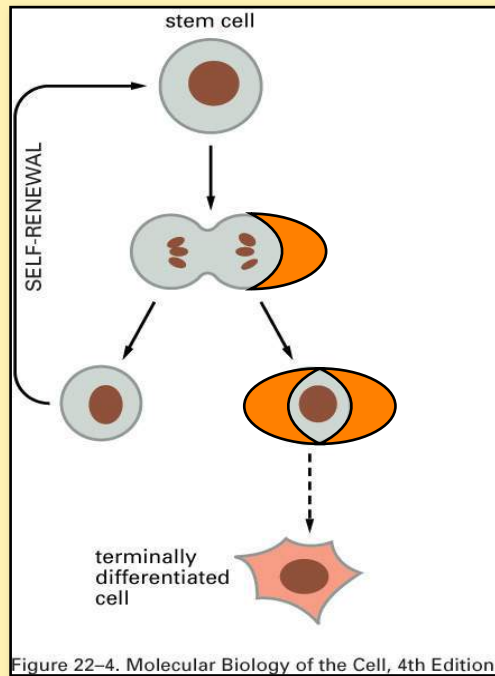


Cellule staminali possono dividersi per divisione cellulare asimmetrica

La divisione cellulare asimmetrica è importante per mantenere un **numero costante di cellule staminali**.

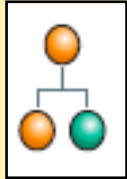
Durante la divisione cellulare → si generano **due cellule figlie diverse** con proprietà distinte

Le divisioni cellulari asimmetriche si hanno in seguito ad una **segregazione polarizzata** di particolari determinanti molecolari: 1) Molecole di membrana; 2) Fattori citoplasmatici; 3) Determinanti nucleari.

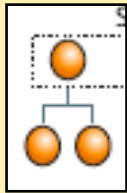
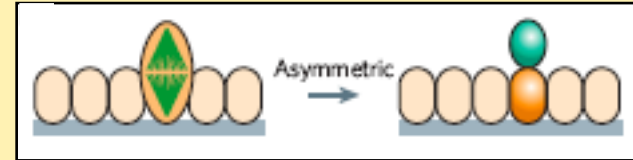


Cellule staminali possono effettuare divisioni cellulari sia asimmetriche che simmetriche

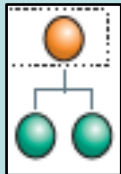
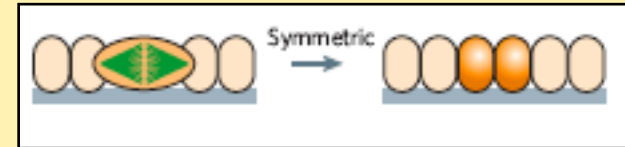
Importante è mantenere l'identità e la capacità di auto-rinnovamento



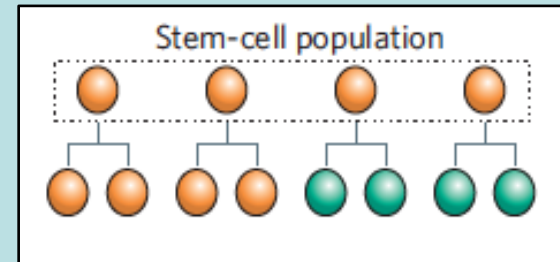
Divisione asimmetrica: importante per il mantenimento del *pool* di cellule staminali e progenitori



Rinnovamento simmetrico: Serve per espandere il pool di cellule staminali durante lo sviluppo, la guarigione di ferite e rigenerazione tissutale.

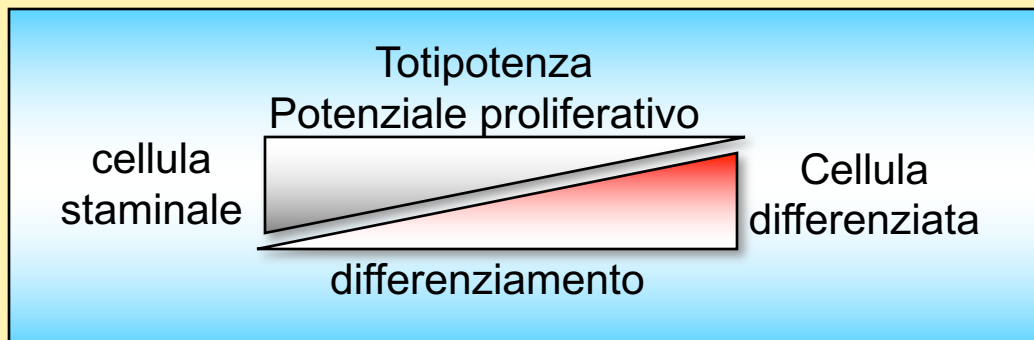
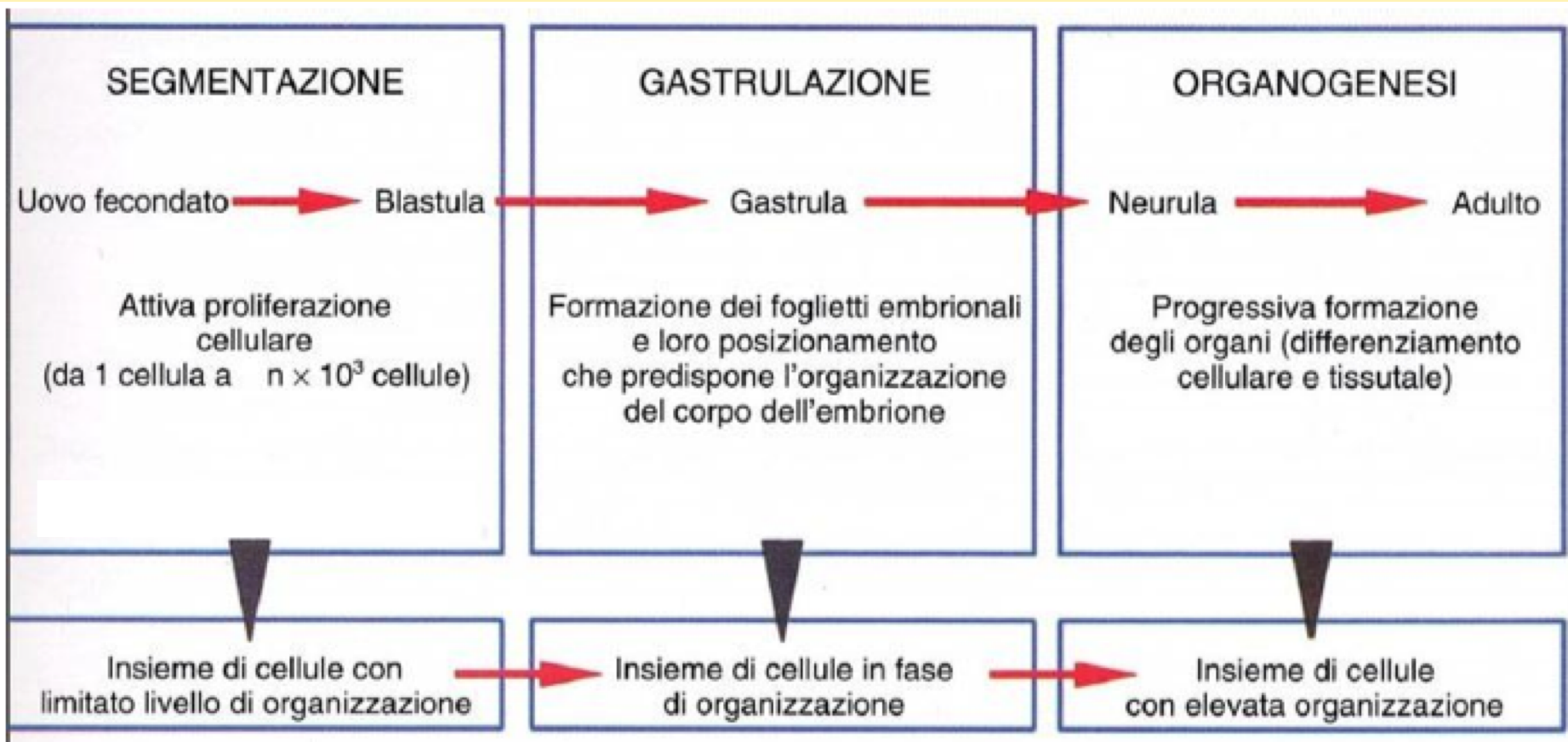


Differenziamento simmetrico: Cellule staminali possono anche effettuare divisioni cellulari che producono due cellule differenziate



Cellule staminali embrionali (ES)

Staminalità e differenziamento



ESTRINSECI

LIF (Leukaemia inhibitory factor)

Dà lo stimolo estrinseco per il mantenimento dello stato staminale (famiglie delle citochine IL-6)

Interagisce con i recettori di membrana LIF-R β e gp130 che eterodimerizzano ed attivano la via di trasduzione JAK-STAT

-Il trattamento di ES con un DN di Stat3 causa il differenziamento delle ES!

INTRINSECI

OCT4 (POU TF)

Livelli costanti di questo fattore di trascrizione sono associati con l'identità delle cellule ES, la modulazione di essi portano a differenziamento.

E' espresso in cellule staminali totipotenti e germinali nel topo;

Il differenziamento delle ES inizia a partire dalla blastociste verso le linee di sviluppo somatiche e durante la gastrulazione in concomitanza con un abbassamento dei livelli di OCT4.

>>Le cellule della ICM esprimono OCT4 solo se sono indifferenziate fornendo un MODELLO per eventi precoci del differenziamento somatico nell'embrione.

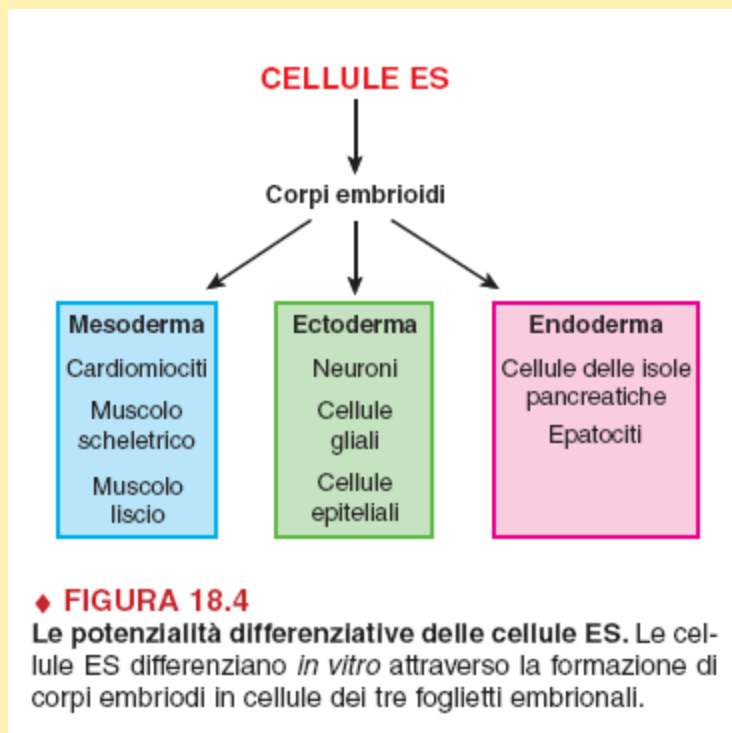
Fattori di trascrizione col dominio POU legano il motivo ottamerico su promotori ed enhancers, interagendo con diversi co-attivatori.

NANOG (divergent homeodomain protein)

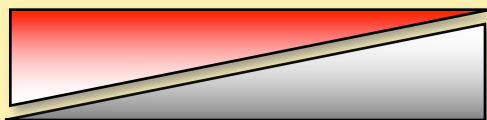
L'espressione di NANOG è necessaria per l'auto-rinnovamento e il mantenimento della staminalità.

Modello per lo studio dei meccanismi di staminalità: Cellule ES pluripotenti

- possono essere coltivate *in vitro*
- possono essere indotte a differenziarsi in diversi tipi cellulari *in vitro*



Leukaemia inhibitory factor (LIF)



Fattori di differenziamento specifici

◆ TABELLA 18.2
Differenziamento *in vitro* delle cellule ES murine

Tipi cellulari	Bibliografia
Adipociti	Dani et al., 1997
Astrociti	Fraichard et al., 1995
Cardiomiociti	Maltsev et al., 1993
Condrociti	Kramer et al., 2000
Cellule emopoietiche	Wiles and Keller, 1991 Nakano et al., 1996
Cellule dendritiche	Fairchild et al., 2000
Cellule endoteliali	Yamashita et al., 2000
Cheratinociti	Bagutti et al., 1996
Mast cells	Tsai et al., 2000
Neuroni	Strubing et al., 1995
Oligodendrociti	Liu et al., 2000
Osteoblasti	Buttery et al., 2001
Cellule delle isole pancreatiche	Lumelsky et al., 2001
Muscolo liscio	Yamashita et al., 2000
Muscolo striato	Rohwedel et al., 1994

Cellule staminali fetali e adulte

> Acquisizione progressiva e stabile di **nuove caratteristiche** che porta all'insorgenza di **tipi cellulari ben definiti**, quali ad es. cellule adipose, muscolari etc. a partire da un singolo uovo fecondato.

Durante gli stadi di sviluppo le cellule cambiano **espressione genica** a seconda del periodo e del luogo in cui si trovano all'interno dell'organismo e questo processo è denominato **differenziamento cellulare**.

Una cellula differenziata è caratterizzata da specifiche proteine che contiene, che le conferiscono le sue proprietà biochimiche, strutturali e funzionali uniche.

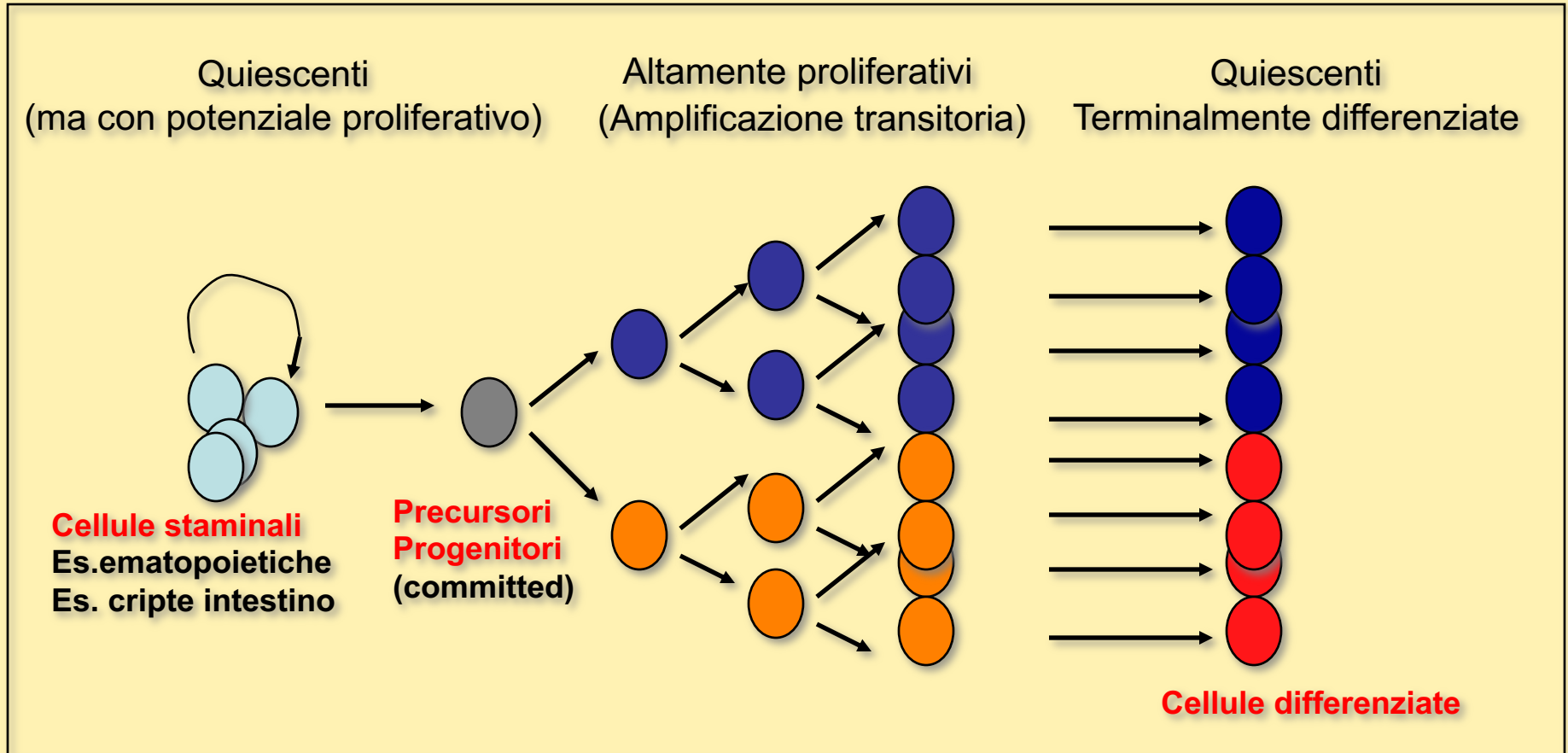
Durante lo sviluppo cellule embrionali interagiscono tra loro attraverso **contatti cellula-cellula** e attraverso **segnali extracellulari** (mediati da citochine e contatti con la matrice extracellulare-integrine). Tali interazioni regolano le successive modifiche del destino cellulare e limitano progressivamente il potenziale differenziativo delle cellule embrionali verso destini via via più ristretti. Il differenziamento è quindi un processo graduale che si realizza attraverso generazioni cellulari successive.

Gli stadi iniziali del differenziamento sono molto difficili da rilevare e consistono di alterazioni sottili, associate all'attivazione di pochi geni, ma che determinano il **commissionamento** ad una particolare linea di sviluppo.

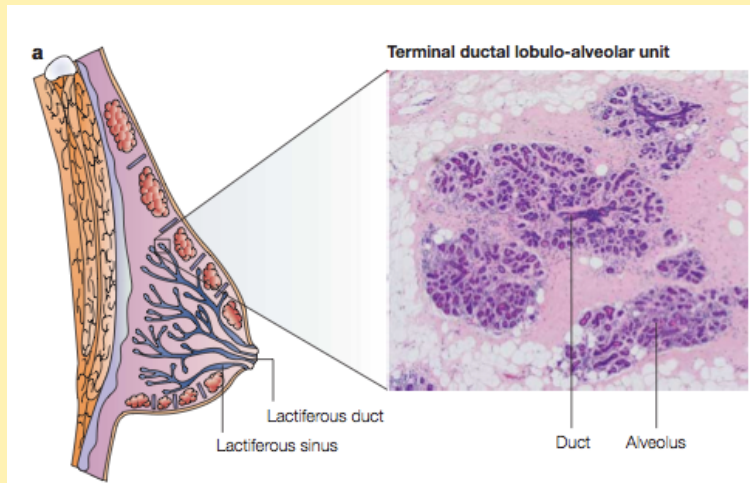
**Alcune cellule invece rimangono INDIFFERENZIATE
sono le cellule staminali (FETALI e ADULTE)**

Funzione delle cellule staminali adulte:

Ripopolare i tessuti con cellule differenziate e mantenere il *pool* di cellule staminali

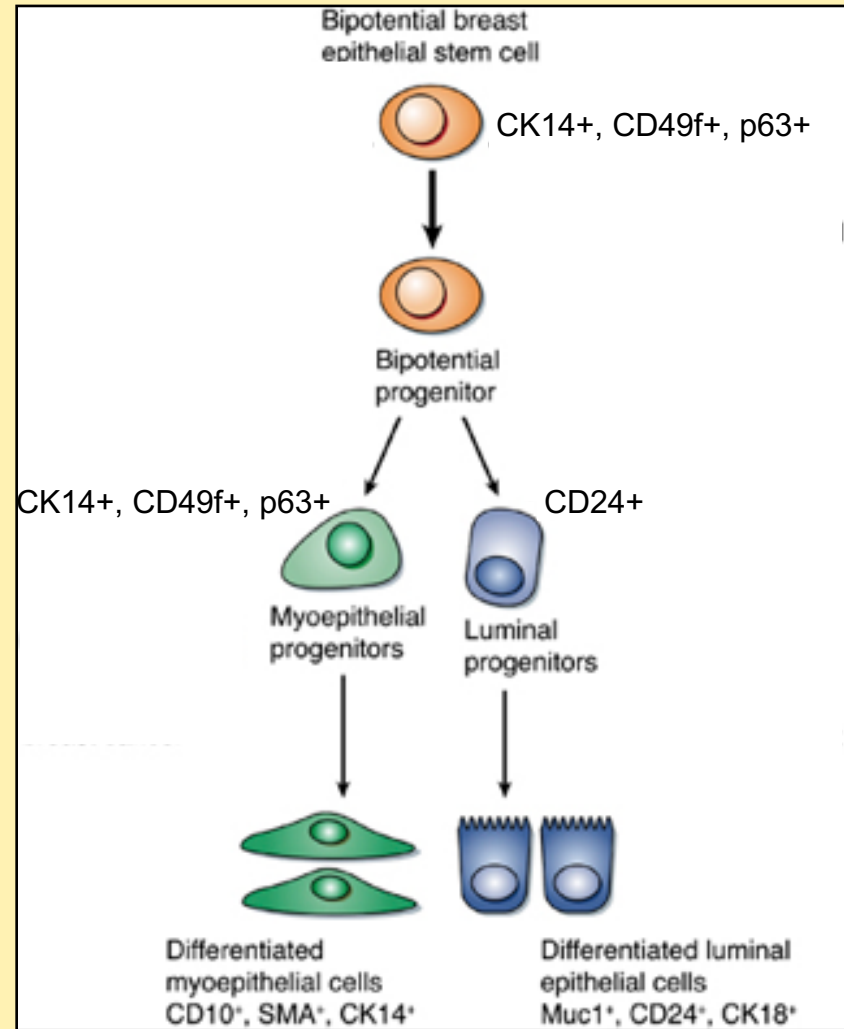


Cellule staminali e progenitori nell'epitelio mammario:



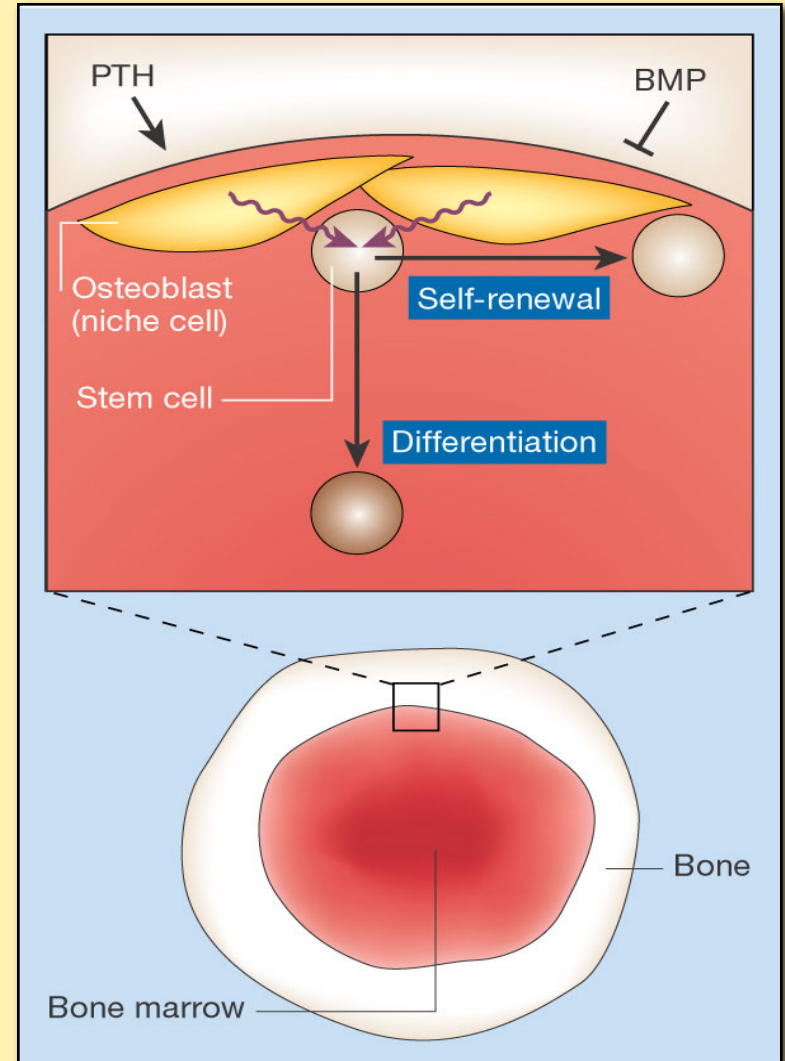
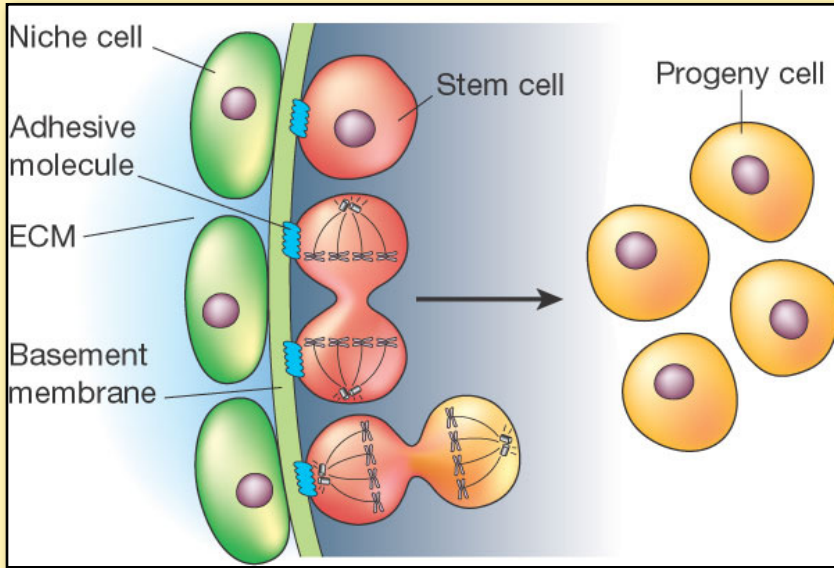
Anatomia della ghiandola mammaria

Smalley and Ashworth, Nat Rev Cancer 2003



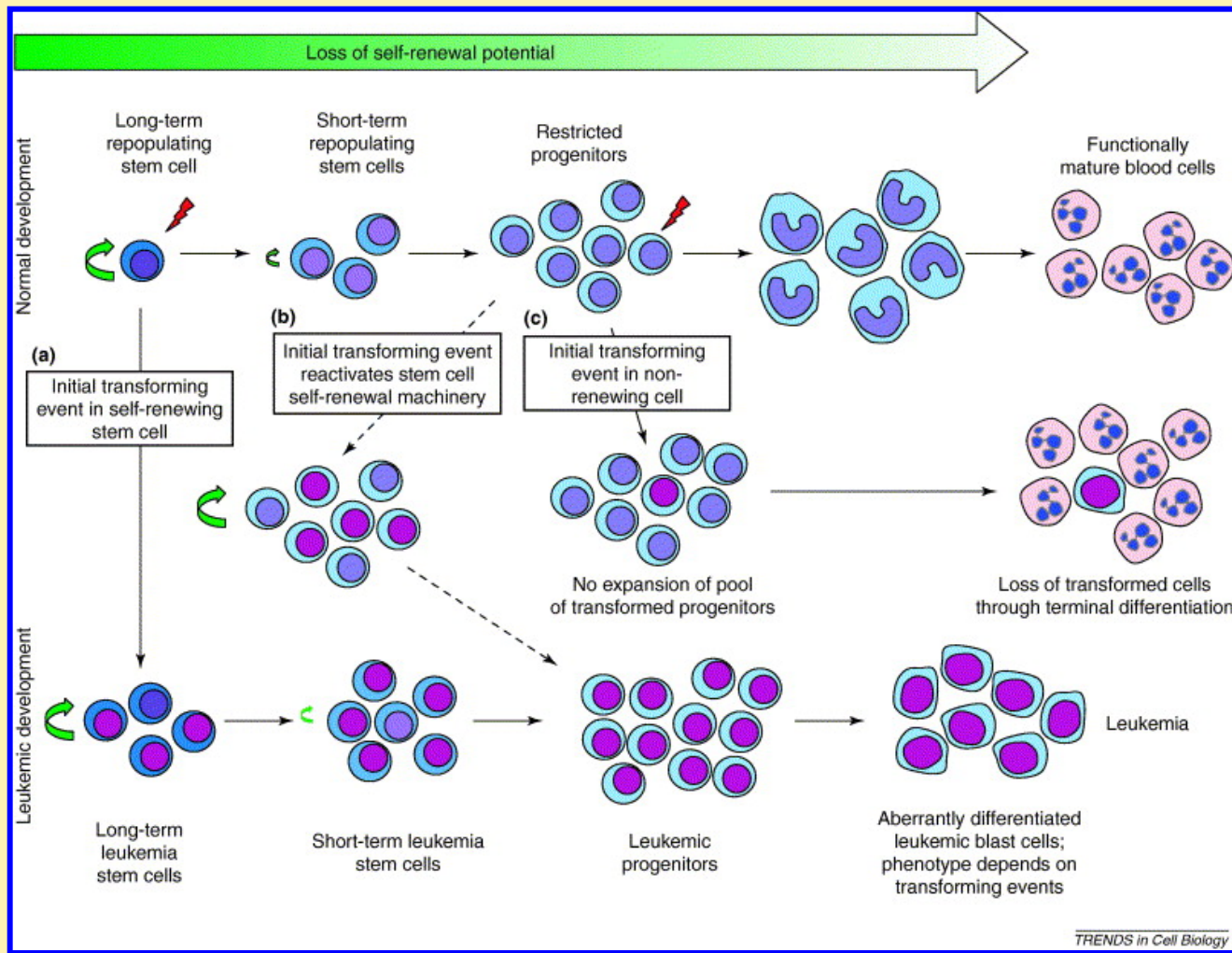
L'importanza della nicchia

“Controllo delle nascite” delle cellule staminali:
La nicchia regola la crescita ed il differenziamento di cellule staminali.



Cellule staminali dei tumori

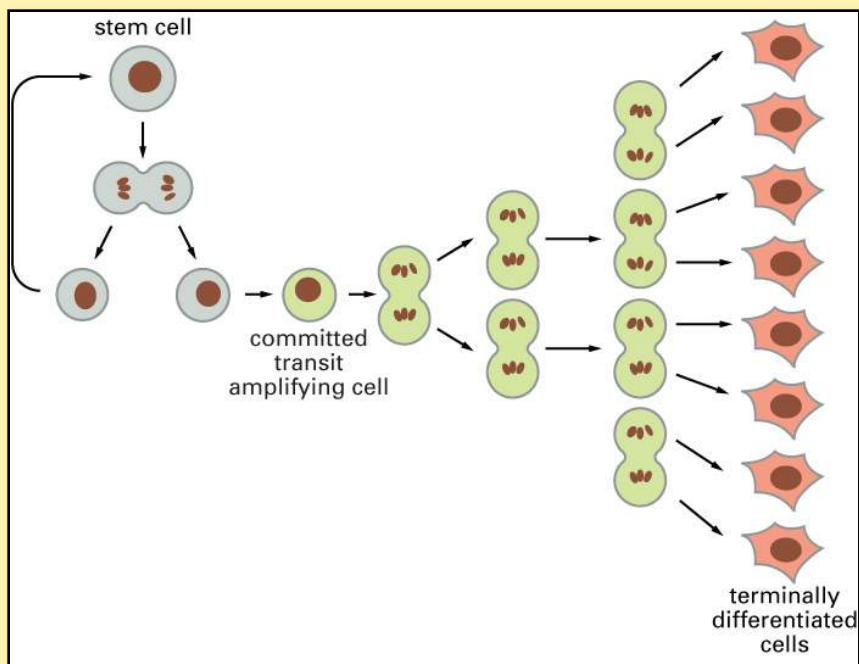
Dimostrazione dell'importanza della capacità di autorinnovamento nell'iniziazione e progressione leucemica



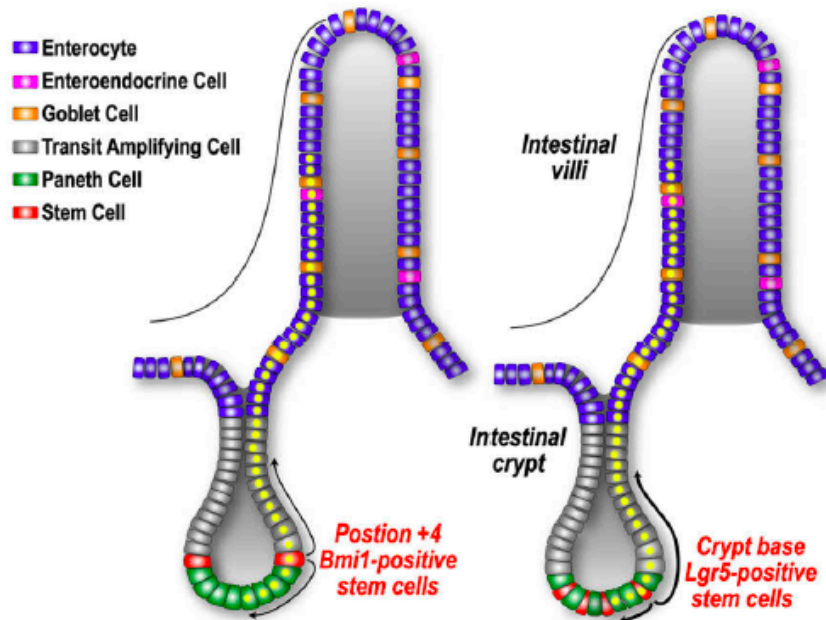
L' autorinnovamento è una caratteristica di cellule staminali sia normali che leucemiche. Sono necessarie **MENO MUTAZIONI** per trasformare cellule staminali che possiedono la capacità di autorinnovamento **(a)**, rispetto a progenitori già determinati, nei quali questa proprietà deve essere riacquisita **(b)**.

Cellule staminali vivono a lungo: quindi la **probabilità di accumulare cambiamenti genetici è maggiore** rispetto ai progenitori che vivono meno a lungo. Se tale progenitore acquisisce una mutazione che non conferisce la capacità di autorinnovamento **(c)**, tale cellula sarà molto probabilmente eliminata oppure differenzierà terminalmente prima di accumulare abbastanza mutazioni per iniziare un programma leucemico.

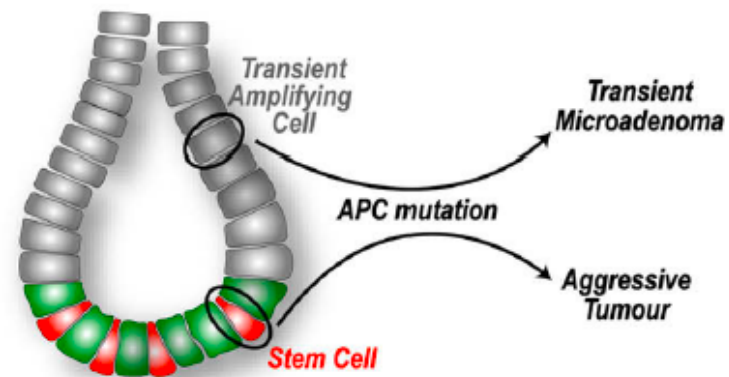
L'esempio del CARCINOMA INTESTINALE: quale cellula e quale mutazione?



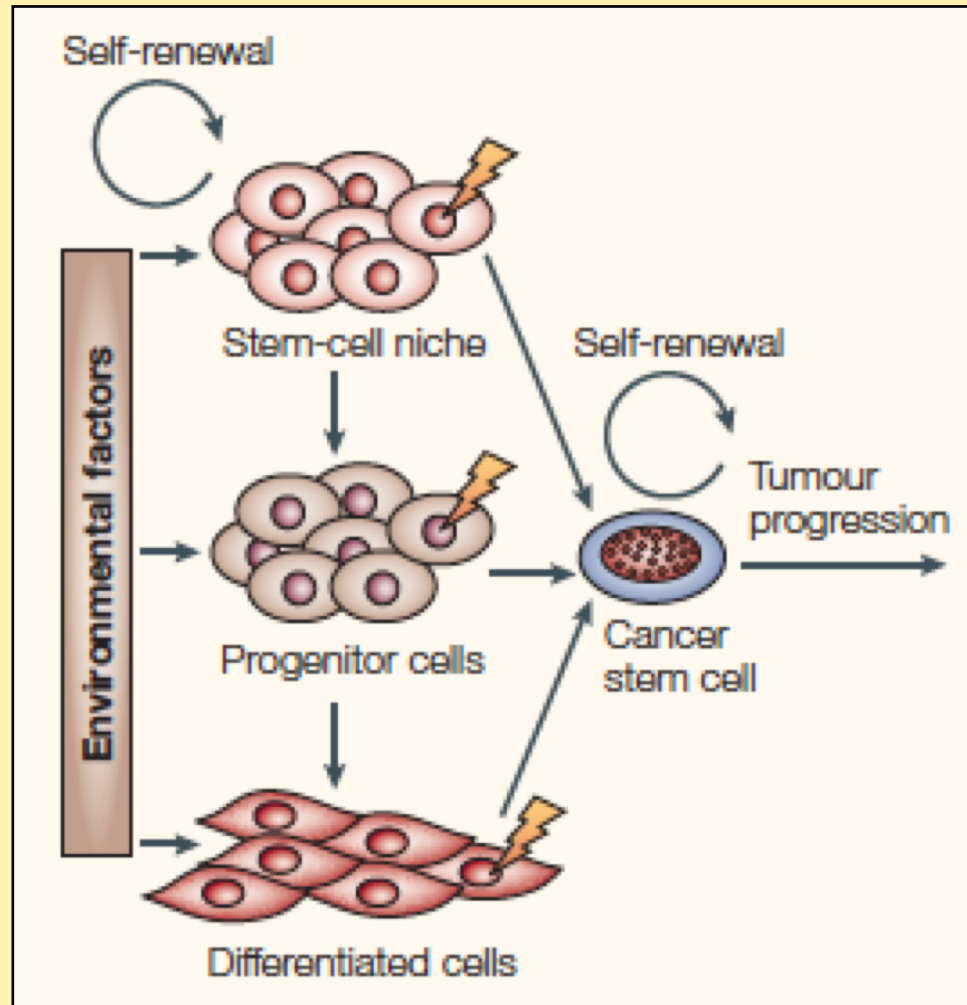
A Stem cells in the small intestine of the mouse



B Cancer formation from stem cell mutations



Quale cellula e quale mutazione?

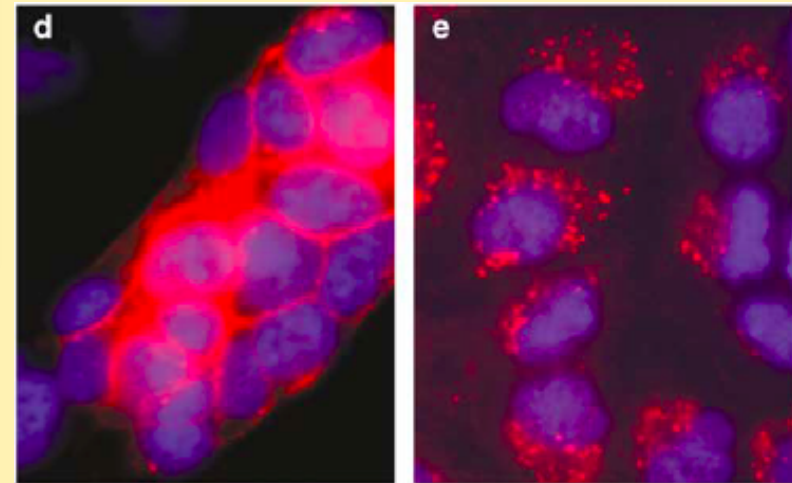
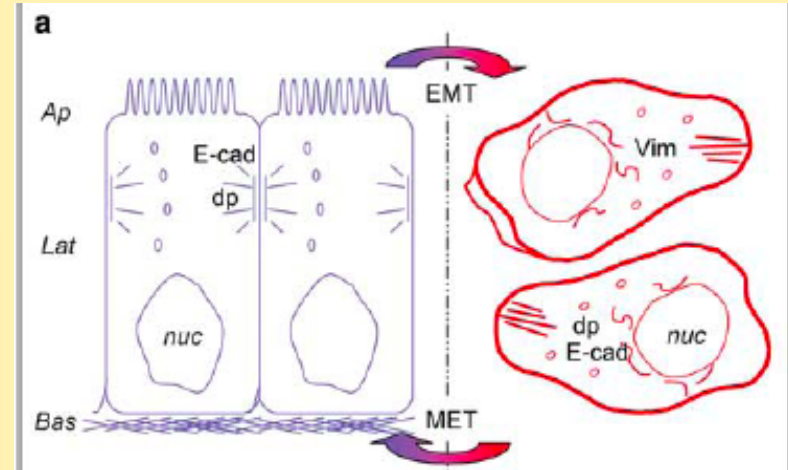
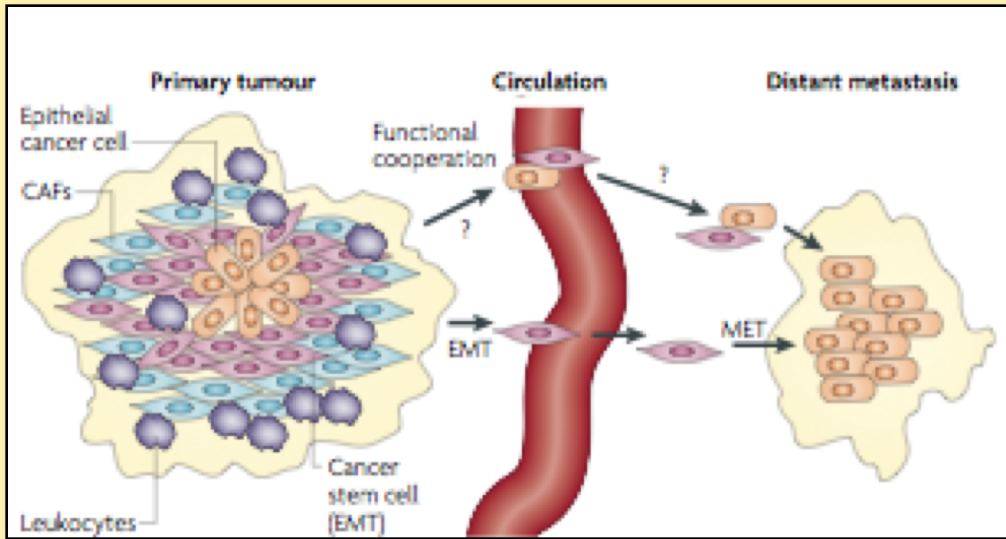


La transizione epiteliale-mesenchimale (EMT) genera CSC

Cell

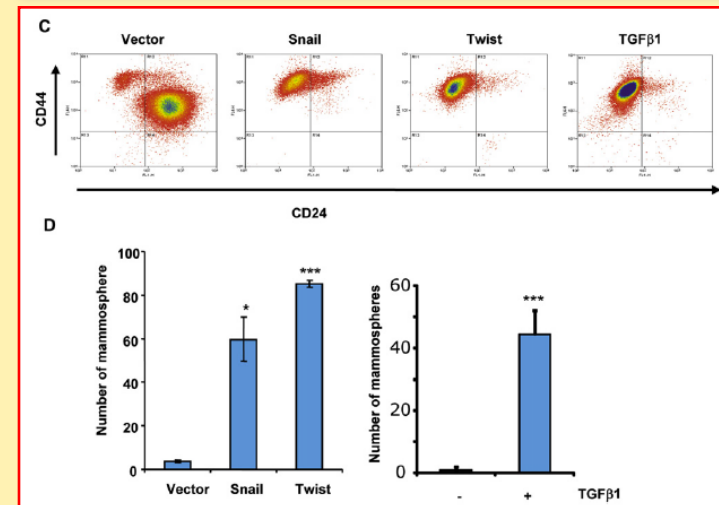
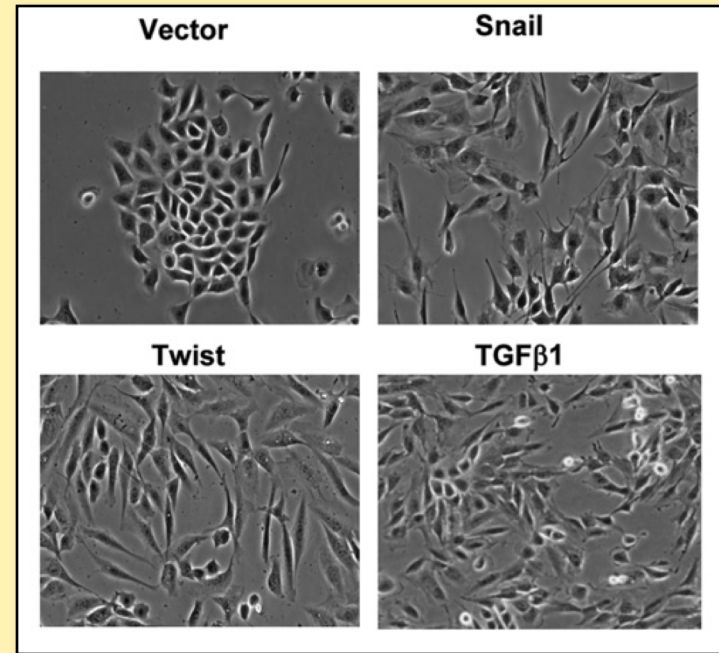
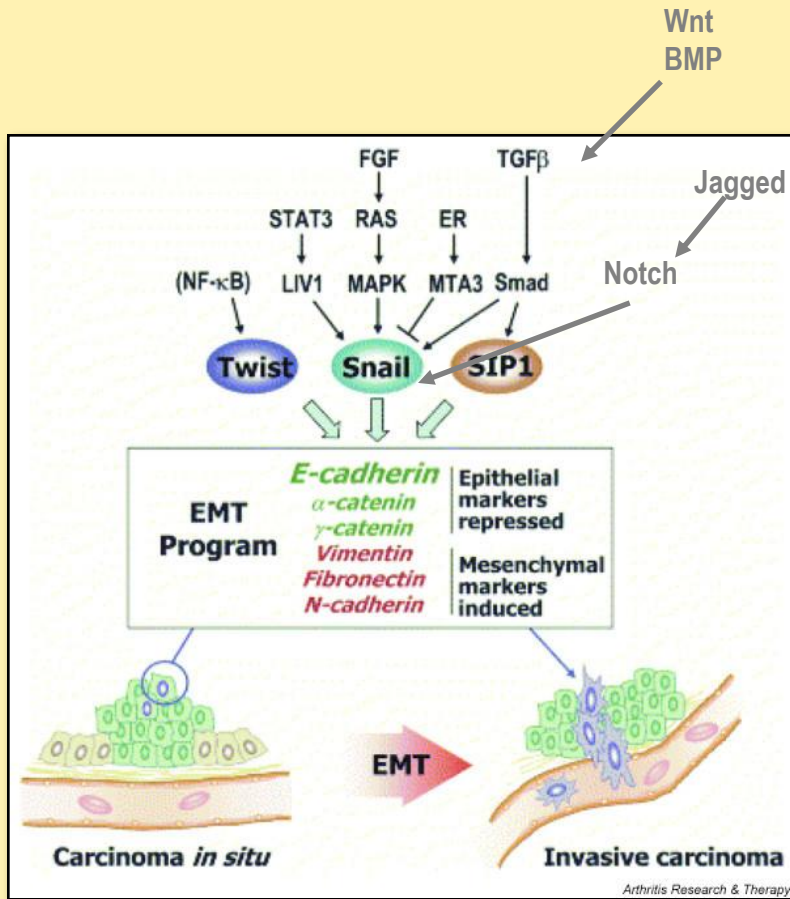
The Epithelial-Mesenchymal Transition Generates Cells with Properties of Stem Cells

Sendurai A. Mani,^{1,5,10*} Wenjun Guo,^{1,10} Mai-Jing Liao,^{1,10} Elinor Ng. Eaton,¹ Ayyakkannu Ayyanan,⁴ Alicia Y. Zhou,^{1,2} Mary Brooks,¹ Ferenc Reinhard,¹ Cheng Cheng Zhang,¹ Michail Shpitsin,^{5,6} Lauren L. Campbell,^{5,7} Kornelia Polyak,^{5,6,7} Cathrin Brisken,⁴ Jing Yang,⁹ and Robert A. Weinberg^{1,2,9,*}



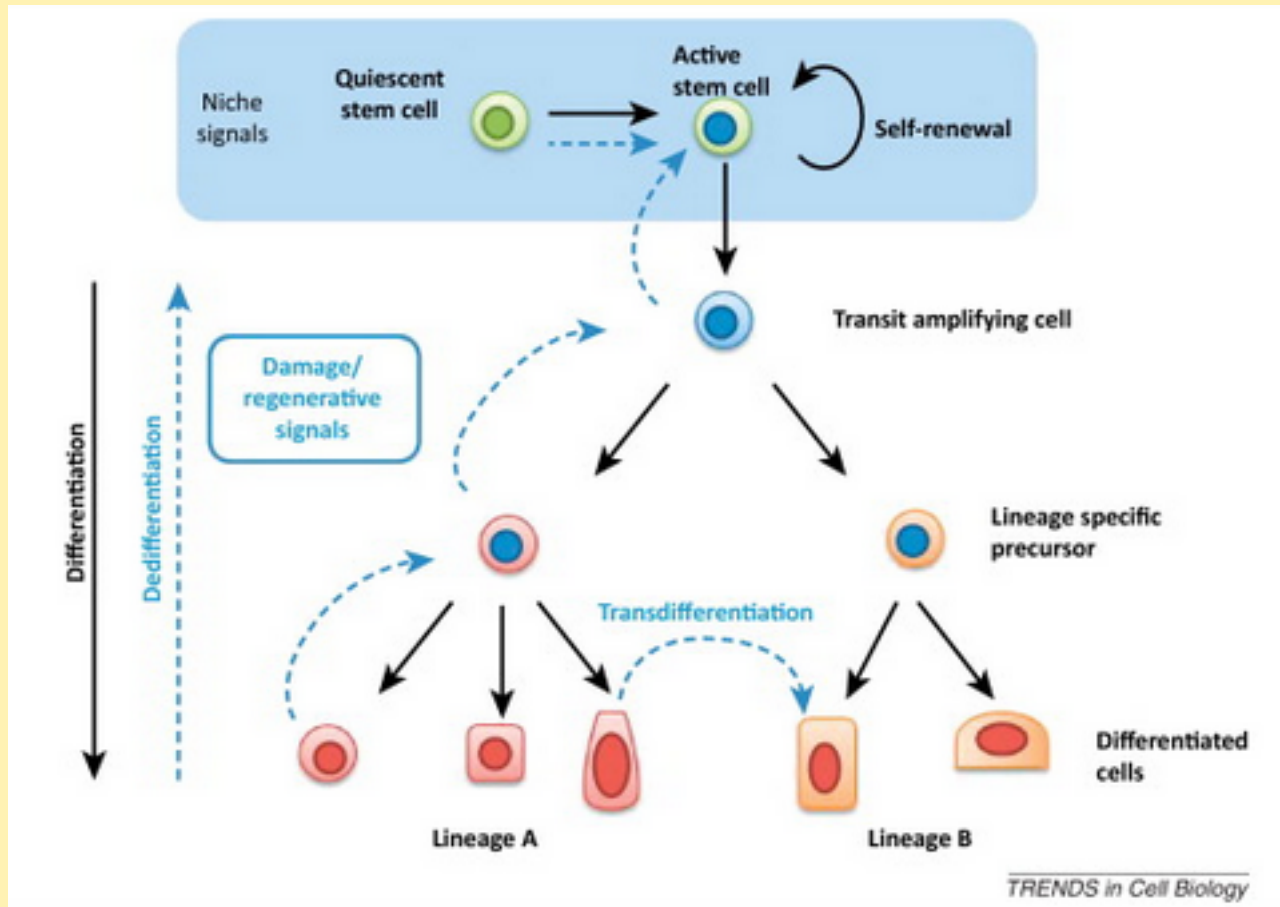
Larue & Bellacosa, *Cancer Res* 2005

La transizione epitelio-mesenchimale conferisce proprietà staminali



Plasticità cellulare

Plasticità cellulare



Cellule pluripotenti indotte (iPS): UN MODELLO DI PLASTICITA' CELLULARE

The Nobel Prize for Medicine
 Shinya Yamanaka of Japan and John Gurdon of Britain honoured for their work on cell programming

1962 Gurdon discovered that an adult frog cell could be reprogrammed

- 1 Nucleus of a cell of a frog egg removed from a living frog
- 2 Replaced by the nucleus of a tadpole cell
- 3 Modified egg grows into a normal tadpole

2006 Yamanaka discovered how mice cells could be returned to their youthful state, becoming pluripotent stem cells

- 1 Four genes from a mouse embryo were transferred into cells taken from mouse skin
- 2 Reprogrammed, they became pluripotent stem cells which could be developed into all cell types of an adult mouse

► "Pluripotent" cells, including nerve, heart and liver cells, could now be generated from humans

► The discoveries have raised hopes that replacement tissue may in the future be grown to fight disease in humans

► The process avoids the need to use stem cells from early-stage embryos for research

Source: *Nature* / AFP

