

Received: 2015.05.19
Accepted: 2016.09.15
Published: 2016.12.31

Rola nowotworowych komórek macierzystych w patogenezie raka jelita grubego*

The role of cancer stem cells in pathogenesis of colorectal cancer

Magdalena Szaryńska, Agata Olejniczak, Zbigniew Kmiec

Katedra i Zakład Histologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Rak jelita grubego jest bardzo poważnym problemem klinicznym ze względu na wciąż rosnącą liczbę zachorowań, jak i ze względu na trudności w leczeniu pacjentów, szczególnie jeśli choroba jest już w stadium zaawansowanym. W pracy kompleksowo omówiono problemy związane z podłożem molekularnym rozwoju raka jelita grubego, a zwłaszcza z pojawieniem się nowotworowych komórek macierzystych w obrębie nabłonka jelita i mechanizmami ich proliferacji. Wykazano, że nowotworowe komórki macierzyste są w znacznej mierze odpowiedzialne za rozwój oporności na leczenie i tworzenie przerzutów. Omówiono też rolę niszy nowotworowych komórek macierzystych w progresji raka jelita grubego. Dokładne poznanie mechanizmów transformacji nowotworowej oraz biologii nowotworowych komórek macierzystych może się przyczynić do wcześniejszego wykrywania raka jelita grubego oraz rozwoju skuteczniejszych terapii.

Słowa kluczowe:

rak jelita grubego • nowotworowe komórki macierzyste • Lgr-5 • Bmi-1 • różnicowanie • proliferacja

Summary

Colorectal cancer (CRC) is the third most commonly diagnosed cancer, accounting for about 10% of total adult malignancies worldwide. The majority of CRC cases are diagnosed at the late stage; thus the investigation of the pathogenesis of early-stage disease and its detection could prevent formation of metastasis, a leading cause of death. This review highlights the recent progress in the understanding of the development of cancer stem cells (CSCs) in the colon epithelium and mechanisms of their proliferation. Moreover, we describe the role of the CSCs in resistance to chemotherapy and formation of metastases. We present evidence for the importance of the interactions between CSCs and their environment in the propagation of the disease. It is hoped that further studies of colorectal cancer CSCs could be helpful in the early detection and improved therapy of this neoplasm.

Keywords:

colorectal cancer • cancer stem cells • Lgr-5 • Bmi-1 • differentiation • proliferation

*Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, projekt N N402 684040.

Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1227897
Word count:	4306
Tables:	2
Figures:	2
References:	120

Adres autora: prof. Zbigniew Kmieć, Katedra i Zakład Histologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 1, 80-210 Gdańsk; e-mail: zkmiec@gumed.edu.pl

WPROWADZENIE

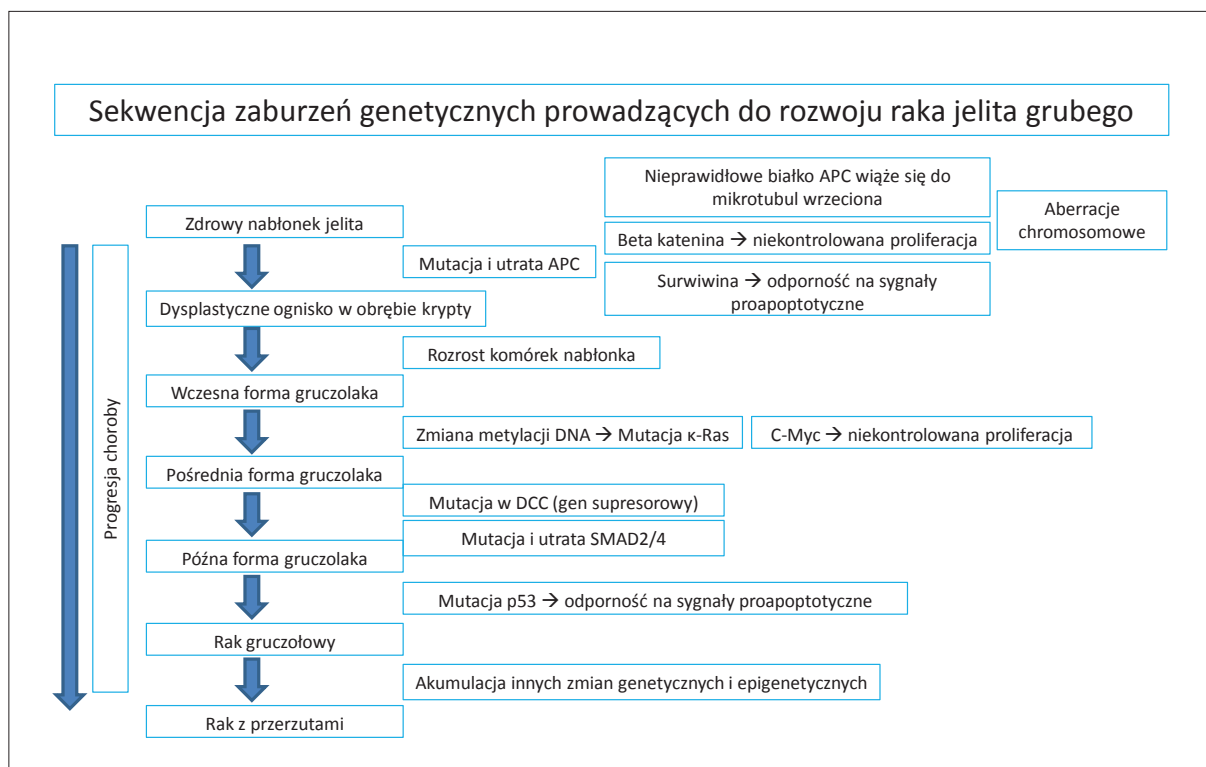
Mimo ogromnego postępu, jaki się dokonał w medycynie w ostatnich latach, choroby nowotworowe wciąż pozostają główną przyczyną zgonów. Wśród nich wysoką pozycję zajmuje rak jelita grubego (RJG). Nowotwory jelita grubego są trzecim najczęściej występującym na świecie nowotworem u mężczyzn (10%) i drugim u kobiet (9%). Dla Polski dane statystyczne wynoszą odpowiednio 12 i 10% zachorowań. Zachorowania występują prawie dwukrotnie częściej w populacji mężczyzn niż kobiet. Większość zachorowań na nowotwory złośliwe jelita grubego występuje po 50 roku życia (94%). Przeżycia 5-letnie wśród pacjentów z nowotworami jelita grubego w ciągu pierwszej dekady XXI w. nieznacznie wzrosły: u mężczyzn: z 43,3 do 47,6%, natomiast u kobiet: z 44,1 do 49,1% (Krajowy Rejestr Nowotworów, Polska Unia Onkologii).

Uważa się, że czas rozwoju RJG od zapoczątkowania procesu nowotworowego do wystąpienia klinicznych objawów wynosi od kilku do kilkadziesiąt lat [48]. Wśród czynników sprzyjających powstaniu i rozwojowi raka jelita grubego należy wymienić przede wszystkim niewłaściwą dietę, niewielką aktywność fizyczną, chroniczne stany zapalne oraz czynniki genetyczne [46,80]. Na podstawie badań genetycznych, obserwacji makroskopowych oraz mikroskopowych w 1990 r. przedstawiono hipotezę wyjaśniającą procesy rozwoju nowotworu złośliwego z gruczolaka jelita („adenoma-carcinoma sequence”) [33]. Tysiące badań przeprowadzonych w następnym latach potwierdziły słuszność tego tzw. „kanonicznego szlaku” powstawania RJG dla ponad 70% przypadków. Dokładne określenie zmian leżących u podstawy patogenezы RJG u konkretnego pacjenta jest bardzo ważne, ponieważ rzutuje to na późniejsze decyzje dotyczące zastosowanej terapii [14].

Uważa się, że rozwój RJG (ryc. 1) zaczyna się od pojawienia w nabłonku jelita małego ogniska dysplastycznego i jego stopniowej przemiany i wzrostu do raka inwazyjnego przez fazę gruczolaka. Dysplazja obejmuje zmiany ograniczone jedynie do warstwy nabłonkowej, która nie przekracza bariery błony podstawnej. Zmiany dotyczą morfologii enterocytów oraz zaburzeń w architekturze tkanki, wskazując na postępują-

jący proces przemiany nowotworowej. W zależności od zaawansowania zmian dysplazja klasyfikowana jest jako lekka, średnia lub ciężka. Im wyższy stopień dysplazji, tym większe prawdopodobieństwo jej przejścia w raka. Dysplazja ciężka jest uznawana za zmianę przedrakową i wymaga dalszej diagnostyki, kontroli i ewentualnego leczenia. Procesy powstawania gruczolaka i dalszej progresji choroby są następstwem skumulowania wielu genetycznych i epigenetycznych aberracji potrzebnych do tego, aby prawidłowe komórki organizmu uległy przemianie do nowotworowych komórek macierzystych. Zaburzenia dotyczą zarówno onkogenów (*K-RAS*, *C-MYC*), jak i genów supresorowych (*APC*, *DCC*, *P53*) i, co najważniejsze, zmiany w wielu genach są niezbędne do tego, by wywołać transformację nowotworową. Te charakterystyczne mutacje wywołują niestabilność genomu, czego następstwem jest zmiana liczby chromosomów i/lub zmiany w ich strukturze [14]. W wyniku nawarstwiających się mutacji dochodzi do selekcji klonów komórkowych, w których jest zaburzona prawidłowa kontrola cyklu komórkowego, proliferacji i różnicowania. Komórki są zdolne do niekontrolowanych podziałów i uniezależniają się od mechanizmów indukujących apoptozę, co stanowi jeden z mechanizmów unikania ich eliminacji przez układ odpornościowy [40].

Należy jednak podkreślić, że około 15% przypadków RJG rozwija się według innego szlaku molekularnego. Rak rozwija się najczęściej ze zmian pojawiających się w odcinku proksymalnym jelita grubego. W nabłonku tych okolic stwierdza się zmieniony wzór metylacji wysp CpG oraz mutacje onkogenu *BRAF* [11]. Ostatnią grupą przypadków są dziedziczne postaci RJG, które stanowią 3-5% wszystkich zachorowań [14]. Wrodzony rak jelita grubego występuje w dwóch postaciach [2,5]. Jedna jest związana z mutacją w genie białka z kompleksu degradującego β -kateninę – *APC* (*FAP* – Familial Adenomatous Polyposis), a u podstawy drugiej leżą niewydajne mechanizmy naprawy uszkodzeń DNA wywołane mutacją w genach białek Mismatch Repair (*MMR*) (*HNPCC*/Lynch Syndrom – Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer). Oprócz wymienionych, opisano występowanie rodzinnej postaci raka jelita grubego, lecz nie zidentyfikowano w nich żadnej konkretnej mutacji leżącej u podłoża rozwoju choroby [14,56].



Ryc. 1. Kolejność zmian morfologicznych i zaburzeń genetycznych prowadzących do rozwoju raka jelita grubego

NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZYTE

Dla wielu typów nowotworów wykazano, że rozwijają się z komórek o cechach przypominających komórki macierzyste pluripotencjalne [83] określane jako „nowotworowe komórki macierzyste” (NKM) (cancer stem cells, CSCs lub tumor initiating cells, TICs) [77,78,83]. Pojawienie się pierwszej komórki nowotworowej tłumaczy teoria somatycznych mutacji, według której w ciągu swojego życia komórka akumuluje mutacje i staje się komórką nowotworową, gdy osiągnie zdolność do niekontrolowanych podziałów. Hanahan i Weinberg [40] opisali zmiany, które zachodzą w czasie rozwoju nowotworu: nabycie zdolności do nieograniczonej proliferacji niezależnej od obecności czynników wzrostowych, oporności na czynniki hamujące wzrost i podziały, oporności na czynniki proapoptotyczne, zdolności do indukcji angiogenezy, do inwazji i przerzutowania. W procesie transformacji nowotworowej komórek zachodzą również zmiany w ich metabolizmie energetycznym (przełączenie na metabolizm beztlenowy) – tzw. efekt Warburga [63] oraz wykształcenie zdolności ucieczki przed aktywnością komórek układu odpornościowego, tzw. immune evasion [70]. NKM wykształcają także mechanizmy chroniące je przed działaniem chemioterapeutyków, m.in. przez indukowanie ekspresji w błonie komórkowej dużej liczby transporterów z rodziny ABC. Wspomniane przemiany komórek prawidłowych w kierunku fenotypu NKM mogą być indukowane i podtrzymywane przez ich mikrośrodowisko. Wykazano, że warunki mikrośrodowiska podtrzymującego samoodnawiające się prawidłowe

komórki macierzyste nabłonka jelitowego, są takie same dla nowotworowych komórek macierzystych [59,83].

Stwierdzono, że NKM są odpowiedzialne za oporność guza na leczenie, mimo że stanowią zaledwie 2,5% masy guza RJG. Wiadomo, że zaledwie 1 komórka na 262 ma właściwości NKM [31,68,78]. Mimo że ponad 75% pacjentów udaje się wyleczyć dzięki zastosowaniu konwencjonalnej terapii, to wciąż u około 30% z nich ponownie rozwijają się dysplastyczne polipy w ścianie jelita grubego odpowiedzialne za progresję choroby nowotworowej [82]. Za to zjawisko odpowiedzialne są NKM, które są zdolne zarówno do migracji i tworzenia przerzutów, jak i do indukcji angiogenezy, by zapewnić komórkom niezbędnych składników odżywczych oraz tlenu. Czas potrzebny do wznowy choroby jest zróżnicowany, zależy od wielu czynników, począwszy od tych leżących w molekularnych podstawach choroby do czynników środowiskowych. Oszacowano, że czas potrzebny do zmiany łagodnej w nabłonku do raka wynosi przynajmniej 20 lat [53]. Obserwacje dotyczące NKM zmuszają do zmiany w podejściu terapeutycznym, które powinno być skierowane właśnie przeciwko populacji komórek inicjującej rozwój choroby, gdyż konwencjonalne leczenie nie jest wystarczające [69].

KOMÓRKI MACIERZYTE NABŁONKA JELITA

Jednowarstwowy walcowaty nabłonek jelita buduje miliony gruczolów (krypt) jelitowych tworzących układy krypta/kosmek w jelicie cienkim oraz układy krypt

w okrężnicy [72]. Stanowi jedną z najważniejszych barier w organizmie, która odpowiada za regulację absorpcji składników odżywczych i wody oraz jedną z najaktywniej odnawiających się i dynamicznych tkanek. Ścisła kontrola procesów, takich jak proliferacja, morfogeneza i adhezja komórek nabłonkowych, szczególnie w czasie ich migracji podczas różnicowania się, jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania nabłonka i do utrzymania homeostazy, nie dopuszczając do rozwoju nowotworu [95]. Większość prac doświadczalnych dotyczących zarówno prawidłowych komórek macierzystych nabłonka, jak i ich znaczenia dla transformacji nowotworowej wykonano na jelicie cienkim myszy. Nabłonek ten stał się swego rodzaju modelowym układem do analizy lokalizacji, funkcji i potencjału komórek macierzystych.

Każda krypta jelitowa zawiera tubularną część zakończoną owalnym/okrągłym dnem, które ma około 250-300 komórek z wyspecjalizowaną domeną, podstawną i apikalną [73]. W jelicie cienkim około dziesięciu krypt jelitowych łączy się w jednym kosmku jelitowym [57].

Zarówno w jelicie cienkim jak i grubym w nabłonku występują trzy podstawowe typy dojrzałych komórek: walcowate enterocyty (kolonocyty w jelicie grubym), komórki wydzielające śluz oraz endokrynowe. W prawidłowych warunkach komórki te ulegają ciągłemu złuszczeniu i są zastępowane przez nowe, będące komórkami potomnymi niewielkiej liczby komórek macierzystych znajdujących się w dnie krypty jelitowej lub w jego pobliżu. Oszacowano, że cały nabłonek jelita cienkiego u myszy ulega wymianie co 2-5 dni [84]. Należy zauważyć, że w nabłonku jelita cienkiego, w odróżnieniu od jelita grubego, występują także komórki M, a w dnie gruczołów jelitowych komórki Panetha, które stanowią jeden z mechanizmów odporności wrodzonej [26,84]. Wyższe partie krypty jelitowej zajmują komórki prekursorowe, które są odpowiedzialne za zwiększenie liczby komórek podlegających różnicowaniu w kolejnych etapach. Migrują wzdłuż długiej osi krypty w górę, a w jelicie cienkim kontynuują migrację jako dojrzałe komórki ku szczytowi kosmków jelitowych [26,72]. Cechy somatycznych komórek macierzystych z nabłonka jelitowego wskazują, że komórki inicjujące rozwój nowotworu wywodzą się z tej właśnie populacji [3,89].

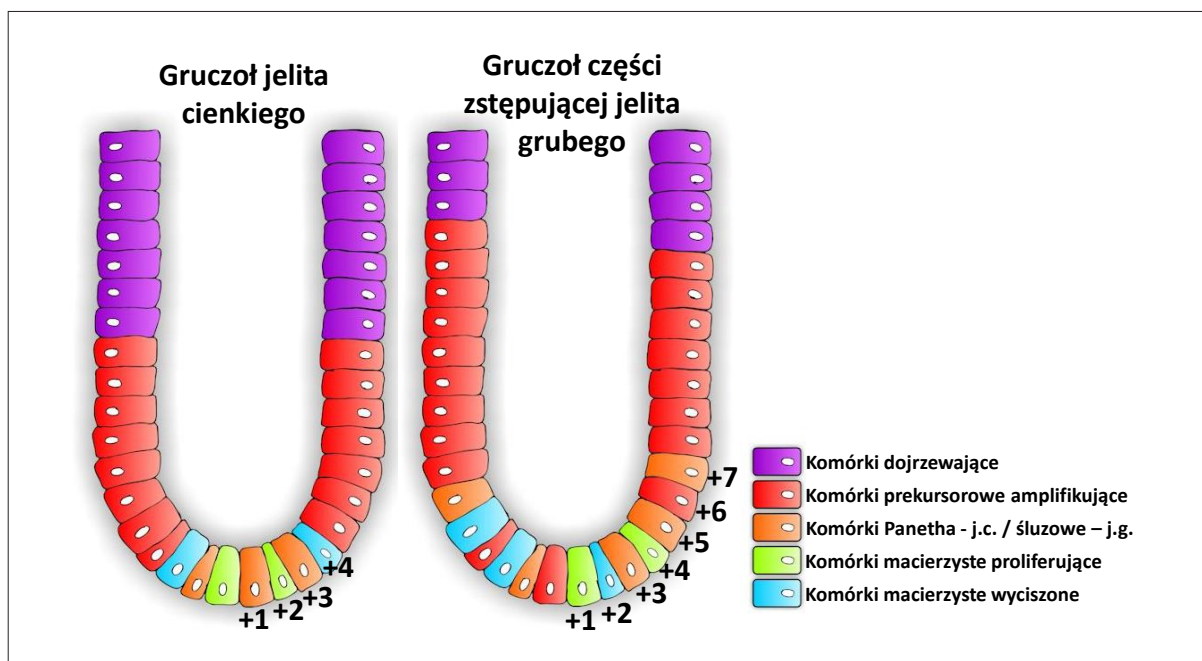
Komórki macierzyste nabłonka jelita cienkiego

Liczba komórek macierzystych w krypcie jelita cienkiego jest trudna do precyzyjnego oszacowania ze względu na stosowane różne metody badawcze opierające analizy o różne właściwości tych komórek. Wymienione komórki bada się pod względem obecności swoistych markerów błonowych, takich jak Lgr-5 lub testów funkcjonalnych opartych na analizie cyklu komórkowego w celu określenia poziomu ich proliferacji. Na przykład, w krypcie jelitowej wykazano obecność 16 komórek Lgr-5⁺ ulokowanych między komórkami Panetha [94] oraz 4 komórki Bmi1⁺ w pozycji +4 [84] (ryc. 2). Natomiast za pomocą metody szacowania liczby komórek proliferu-

jących, wykazano, że w krypcie znajduje się około 15 komórek macierzystych w pobliżu jej dna [26]. Wykorzystując metodę traktowania komórek promieniami γ i przyjmując, że komórki o największym potencjale klonogennym są najwrażliwsze określono, że na dnie krypty znajduje się zaledwie 3-6 nabłonkowych komórek macierzystych [71]. Przedstawiono hipotezę o hierarchicznej strukturze populacji około 36 komórek macierzystych w dnie krypty jelitowej, obejmujących pozycje 1-7 (ryc. 2). Według niej, komórek macierzystych o największym potencjale klonogennym jest zaledwie 4-6, a po ich apoptozie (wywołanej promieniowaniem γ) kolejna grupa komórek, bardziej odporna, zastępuje pierwszą. Po zastosowaniu promieniowania γ o jeszcze większej mocy, które wywołało apoptozę dwóch pierwszych populacji, trzecia grupa (około 24 komórek), zaczyna się dzielić wypełniając miejsca po utraconych komórkach oraz zabezpieczając potrzeby regeneracyjne tkanki [74]. Schematyczną strukturę dolnej części krypty jelitowej w jelicie cienkim i w zstępującym odcinku jelita grubego przedstawiono na rycinie 2.

Według badań grupy Ricci-Vitiani krypty jelita cienkiego zawierają dwie grupy komórek macierzystych [77,100]. W dolnej części dna krypty znajdują się aktywne komórki macierzyste o fenotypie Lgr-5⁺ [4]. Druga grupa komórek macierzystych umiejscawia się w pozycji +4 dna krypty jelitowej. Są to komórki uśpione, charakteryzuje je ekspresja Bmi-1 oraz TERT (podjednostka telomerazy o aktywności odwrotnej transkryptazy), które mogą zastąpić komórki Lgr-5⁺ [102,110]. Małą aktywność proliferacyjną komórek Lgr5^{neg}Bmi-1⁺TERT⁺ wykazano obserwując segregację znaczników radioaktywnych, które nie ulegały rozcieńczeniu w czasie kolejnych rund replikacji w komórkach potomnych. Początkowo wysunięto hipotezę o niesymetrycznym rozdziale nici DNA w czasie podziału. Matczyne nici miałyby być segregowane zawsze do komórki o potencjale komórki macierzystej, a komórka włączająca program różnicowania miałaby otrzymywać nici DNA bez znaczników [58,74]. Dokładniejsze obserwacje wykazały jednak, że chromosomy są segregowane w sposób przypadkowy w czasie podziału, co potwierdziło przypuszczenia o niewielkiej aktywności proliferacyjnej komórek macierzystych nabłonka jelita z pozycji +4 krypty jelitowej [22,30,97]. W eksperymentach z wykorzystaniem metody ablacji komórek Bmi1⁺ metodą miejscowo swoistej rekombinacji, wykazano, że komórki te są niezbędne do utrzymania homeostazy w nabłonku jelita. Po wyłączeniu ich aktywności nabłonek stracił zdolności regeneracji, obserwowano zanik krypt jelitowych oraz śmierć zwierząt doświadczalnych [84]. W odróżnieniu od komórek Lgr-5⁺, które dzielą się ciągle, komórki o fenotypie Bmi-1⁺ ulegają aktywacji dopiero po uszkodzeniu tkanki lub w celu zastąpienia komórek Lgr-5⁺ w przypadku wyczerpania ich puli [47,102].

Buczacki i wsp. opublikowali w 2013 r. wyniki badań, które tłumaczą paradoks, który mówi o jelitowych komórkach macierzystych wyciszonych, lecz jednocześnie pozytywnych pod względem markera



Ryc. 2. Topografia komórek dna krypt jelitowych jelita cienkiego (j.c) i części zstępującej okrężnicy (j.g). Cyfry oznaczają umowne poziomy warstw komórek oznaczane od najniższej części krypty jelitowej

komórek macierzystych aktywnie proliferujących – Lgr-5. Według nich około 20% komórek Lgr-5⁺ ma charakter komórek wyciszonych, które się różnicują w komórki Panetha. Prawdopodobnie komórki Lgr-5⁺ mogą przejściowo różnicować się do komórek Panetha i komórek enteroendokrynowych w nabłonku jelita, nie tracąc jednocześnie możliwości powrotu do „macierzystego” stanu, gdy dojdzie do uszkodzenia tkanki [17]. Podobne obserwacje dotyczą komórek prekursorowych wywodzących się bezpośrednio z komórek macierzystych Lgr-5⁺. Ich identyfikację oparto o analizę ekspresji jednego z ligandów receptora Notch – Dll1. Komórki Dll1^{high} miały potencjał różnicowania się do komórek wydzielniczych, lecz również cechowała je plastyczność pozwalająca na odróżnicowaniu do wcześniejszego stadium komórki Lgr-5⁺ po uszkodzeniu nabłonka [113]. Podstawowe znaczenie komórek Lgr-5⁺ w regeneracji nabłonka jelita zostało potwierdzone przez ich selektywne unieczynnienie (dzięki metodzie delekcji fragmentu genu tego białka), co wyraziło się zanikiem krypt jelitowych. Ponieważ Lgr-5 występuje w bardzo niewielu miejscach (w nabłonku układu pokarmowego, mieszkach włosowych), to nie zaobserwowano zaburzeń w mikroarchitekturze innych narządów w czasie przeprowadzania eksperymentu [25,64]. Natomiast unieczynnienie genów kodujących inne markery jelitowych komórek macierzystych, białek Rnf43 lub Znrf3, doprowadziło do intensywnej ekspansji jelitowych komórek macierzystych Lgr-5⁺ oraz komórek Panetha i powstawania gruczolaków [32]. Mechanizm zjawiska wydaje się powiązany z funkcją białka Rnf43, które wraz z receptorem TNF (TROY, TNFRSF19), tworzą pętlę negatywnej modulacji ścieżki sygnalowania białek Wnt

zapewniającej prawidłowe funkcjonowanie komórek macierzystych [32,112].

Analiza profilu ekspresji genów w komórkach Lgr-5⁺ wyizolowanych z nabłonka jelita cienkiego myszy wykazała podwyższoną aktywność genu *Olfm4* oraz genów białek efektorowych ścieżki Wnt, w tym takich jak *Ascl2*, *Smoc2*, *Rnf43*, które w modelu mysim są również uznawane za swoiste markery macierzystych komórek nabłonka jelita (tabela 1).

Komórki macierzyste nabłonka jelita grubego

Jak wspomniano, większość badań dotyczących właściwości i funkcji komórek macierzystych nabłonka jelita przeprowadzono na komórkach błony śluzowej jelita cienkiego. Obecność bardzo wielu podobieństw między mikroarchitekturą gruczolów jelitowych w jelicie cienkim i w jelicie grubym, pozwala na uznanie wyników badań doświadczalnych dotyczących proliferacji i różnicowania komórek w nabłonku jelita cienkiego za bardzo prawdopodobny odpowiednik zmian zachodzących w nabłonku jelita grubego.

W nabłonku wstępującego odcinka jelita grubego komórki Panetha zostają zastąpione przez tzw. „głębokie komórki wydzielnicze” o fenotypie CD24⁺ckit⁺ [81]. Pomiędzy nimi znajdują się spoczynkowe (quiescent) komórki macierzyste, a proliferujące komórki macierzyste Lgr-5⁺ są umiejscowione powyżej głębszych komórek wydzielniczych. Wykazano, że komórki macierzyste z pozycji 1-4 w nabłonku krypty pochodzą od komórek z pozycji 4-9. Jeżeli wykrywano komórki

Tabela 1. Markery białkowe komórek macierzystych jelita oraz nowotworowych komórek macierzystych raka jelita grubego

	Markery	Funkcja	Literatura	
Komórki macierzyste nabłonka jelita	CD29	β1 integryna – adhezja komórek	[115]	
	Msi-1	Musashi-1, Białko regulatorowe łączące się z RNA (RNA binding protein) - utrzymanie komórek w stanie niezróżnicowanym, odpowiada za niesymetryczne podziały, aktywuje ścieżkę Notch	[67,104]	
	Bmi-1	Represor transkrypcji – odpowiada za utrzymanie chromatyny w stanie nieaktywnym transkrypcyjnie, obecny w wyciszonych komórkach	[84]	
	Lgr-5	GPR49, Receptor 5 sprzężony z białkiem G, zawiera powtórzenia bogate w leucynę (leucine-rich repeat containing G protein-coupled receptor 5), gen dla tego białka jest aktywowany przez ścieżkę Wnt – odpowiada za samoodnowę komórek, obecny w szybko dzielących się komórkach	[4,86,102,115]	
	ALDH-1	Dehydrogenaza aldehydowa, Enzym detoksyfikacyjny, przekształca retinol do kwasu retinowego, który reguluje proliferację	[44]	
	DCAMKL-1	CaM kinase-like-1, kinaza, odpowiada za odporność na nasświetlania, wiąże mikrotubule	[60]	
	TERT	Telomerase reverse transcriptase, telomerowa odwrotna transkryptaza, utrzymuje komórki w stanie uśpionia, odpowiada za odporność na nasświetlania	[66]	
	Ascl-2	Acheate-scute-like 2, Nadrzędny czynnik transkrypcyjny regulujący procesy dojrzewania, gen jest aktywowany przez ścieżkę Wnt oraz Notch	[112]	
	Olfm4	Olfactomedin 4, glikoproteina adhezyjna sekrecyjna, marker komórek szybko dzielących się Lgr-5 ⁺	[111]	
	Rnf43	Ring Finger Protein 43, błonowa ligaza E3 ubikwityny, gen supresorowy, aktywowany jest przez ścieżkę Wnt, odpowiada za stymulację wzrostu komórek	[32]	
	Smoc2	SPARC-related modular calcium-binding 2, gen aktywowany jest przez ścieżkę Wnt, odpowiada za indukcję angiogenezy, organizację macierzy pozakomórkowej, białko adhezyjne, inhibitor proteaz płucnych i tętnicznych, inhibitor czynnika BMP (bone morphogenetic protein)	[100]	
	CD133	Prominina 1 (Prom 1, AC133), błonowa glikoproteina, obecna w szybko dzielących się komórkach, funkcja nie jest znana	[13,41,78,118]	
	ErbB	Błonowy receptor kinazy tyrozynowej, indukuje proliferację komórek. Supresor nowotworów	[75,116]	
	Lrig1	Leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains protein 1 Inhibitor receptorów z rodziny EGFR Typowy dla komórek macierzystych z dna krypty jelitowej	[26,75]	
	Sox9	Czynnik transkrypcyjny, obecny w szybko dzielących się komórkach	[35]	
	Nowotworowe komórki macierzyste raka jelita grubego	DCC	Deleted in colorectal cancer, glikoproteina błonowa, brak – niekontrolowana proliferacja, odporność na sygnały proapoptotyczne	[62]
		CD133	Prominina 1 (Prom 1, AC133), błonowa glikoproteina, szybko dzielących się komórek macierzystych, funkcja nie jest znana	[13,41,78,118]
CD44		P Glikoproteina 1, receptor dla kwasu hialuronowego, cząsteczka adhezyjna, odpowiada za interakcje pomiędzy komórkami oraz pomiędzy komórkami a macierzą pozakomórkową, poprzez regulację ścieżki Wnt odpowiada za utrzymanie właściwości przez NKM	[13,41,115]	
CD166		ALCAM, Cząsteczka adhezyjna	[13,115]	
ALDH1		Dehydrogenaza aldehydowa, Enzym detoksyfikacyjny, przekształca retinol do kwasu retinowego, który reguluje proliferację	[44]	
CD29		β1 integryna – adhezja komórek	[115]	
CD24		HSA (heat stable antygen), cząsteczka adhezyjna	[115]	
ESA		Epithelial specific antygen, EpCAM, cząsteczka adhezyjna	[24]	

Lgr-5⁺ w niższych partiach krypt, to były one również pozytywne pod względem markera CD24. Po dokładniejszej analizie komórki obecne w dnie krypty jelitowej, zidentyfikowano jako wyciszone komórki macierzyste, które tworzą pulę zapasowych komórek uaktywnianych w stanach regeneracji nabłonka [36,49].

Jednak większe zainteresowanie budzi struktura i funkcja nabłonka odcinka zstępującego jelita grubego ze względu na to, że większość RJG rozwija się właśnie w tym odcinku. Na dnie krypt tego odcinka jelita znajdują się komórki wydzielające śluz podobne do komórek kubkowych o fenotypie CD24⁺cKit⁺. Między nimi umiejscawiają się wysokie walcowate komórki z wakuolami o fenotypie Lgr-5⁺, które są prawdopodobnie komórkami macierzystymi o dużym potencjale proliferacyjnym [75]. Komórki wakuolarne Lgr-5^{neg} były wykrywane dopiero od pozycji +18, jednocześnie niedojrzałe, proliferujące komórki wydzielające śluz znajdowano w obszarze 1-6 krypty jelitowej [9]. Te ostatnie komórki nie miały morfologii typowej dla komórek śluzowych, miały mniej ziarnistości wydzielniczych, lecz profil transkrypcyjny był typowy dla komórek kubkowych (Spdef⁺) [39]. Na podstawie analizy fenotypu i właściwości określono, że w przedziale 1-7 współwystępują komórki macierzyste i komórki śluzowe podobne do komórek kubkowych (dominujące w pierwszych pozycjach) oraz pierwsze komórki prekursorowe [9,26,49], co różni ten odcinek od jelita cienkiego, w którym populacje o różnym potencjale są umiejscowione w oddzielnych strefach. Powyżej strefy 1-7 znajduje się strefa prekursorowych komórek przejściowo amplifikujących i różnicujących się. Mechanizm leżący u podstawy aktywacji wyciszonych komórek macierzystych nie jest jeszcze dokładnie poznany, lecz wiadomo już, że komórki te są pozytywne pod względem białka Lrig1, które odpowiada za aktywność proliferacyjną [75,116]. Populacje komórek Lgr-5⁺ i Lrig1⁺ współwystępują w obrębie dna krypt, lecz po analizie transkryptomu, okazało się, że nie są tożsame. Obie populacje zawierały markery komórek macierzystych, takie jak CD133, Bmi1 oraz mTERT, lecz tylko komórki Lgr-5⁺ wykazywały ekspresję Olfaktomedyny4, podczas gdy komórki Lrig1 były pozytywne pod względem białek hamujących wzrost i różnicowanie [26,109]. Komórki Lrig1⁺ są komórkami wyciszonymi w stanie homeostazy. Gen tego białka jest genem supresorowym, a utrata jego funkcji prowadzi do rozwoju gruczolaka [75,116]. Przejście między komórkami Lrig1⁺ a Lgr-5⁺ zachodzi tylko w przypadku uszkodzenia tkanki, nie zdarza się to w warunkach fizjologicznych [75].

KOMÓRKI MACIERZYTE JELITA MOGĄ ULEC TRANSFORMACJI NOWOTWOROWEJ

Według powszechnie przyjętej koncepcji rak jelita grubego rozwija się zgodnie ze schematem „bottom-up” [77,91]. Komórka macierzysta nabłonka jelitowego ulegająca transformacji nowotworowej, dzieląc się w sposób niekontrolowany wytwarza dużo komórek potomnych, które stopniowo zastępują wszystkie komórki nabłonka krypty jelitowej, od dna do szczytu krypty w procesie

zwanym konwersją klonalną [77,91]. Wykazano, że marker Lgr5 ulega ekspresji na wysokim poziomie w komórkach wielu linii RJG oraz że profil ekspresji genów jest bardzo podobny między NKM analizowanych linii RJG i prawidłowymi komórkami macierzystymi dna krypty jelitowej [107].

Jednocześnie, pojawiły się dowody na istnienie alternatywnego schematu rozwoju RJG - „top-down” [91], według którego konwersja klonalna zaczyna się od odróżnionej komórki ze szczytu krypty. W badaniach na liniach komórkowych wykazano, że pod wpływem aktywacji szlaku Wnt następuje sekrecja czynnika martwicy nowotworu, TNF. TNF indukuje ekspresję czynnika transkrypcyjnego NF-κB, który może pobudzać odróżnicowanie się dojrzałej komórki nabłonka jelita do stanu bardziej pierwotnej nowotworowej komórki macierzystej [88]. Białko onkogenne κ-Ras może stymulować czynnik NF-κB, nasilając proces transformacji nowotworowej przez indukowanie odróżnicowywania się dojrzałych komórek z uszkodzonym białkiem Apc [100]. Na podstawie przedstawionych informacji można przypuszczać, że dopóki jelitowe komórki macierzyste aktywnie proliferują po uszkodzeniu tkanki (np. w warunkach stanu zapalnego), pod wpływem dużej aktywności szlaku Wnt, dopóty istnieje duże prawdopodobieństwo, że przyczyni się to do odróżnicowania się którejś z komórek nabłonka jelitowego i nabycia przez nią cech nowotworowej komórki macierzystej.

NAJWAŻNIEJSZE ZMIANY GENETYCZNE ZWIĄZANE Z POWSTANIEM NOWOTWOROWYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH W RAKU JELITA GRUBEGO

Teoretycznie, każda dowolna komórka może zakumulować tyle zmian, zarówno w sekwencji DNA (mutacje), jak i zmian epigenetycznych, w wyniku których może ulec transformacji do nowotworowej komórki macierzystej. NKM mają nieograniczony potencjał do podziałów i różnicowania się w komórki nowotworowe o różnym stopniu zróżnicowania oraz komórki nowotworowe pełniące różne funkcje w obrębie guza, co odpowiada za jego heterogenność, a ich zdolność do migracji sprzyja tworzeniu przerzutów. Istnienie „wyjściowej” nowotworowej komórki macierzystej, która zapoczątkowała rozwój ostrej białaczki szpikowej u myszy SCID charakteryzujących się brakiem odpowiedzi komórkowej, po raz pierwszy opisali Lapidot i wsp. w 1994 r. [52]. Występowanie NKM inicjującej karcynogenezę w przypadku RJG opisano po kilku latach, kiedy Ricci-Vitiani i wsp. wyizolowali komórki CD133⁺ z guza jelita grubego [77]. Klonalna ewolucja proliferujących NKM może doprowadzić do tego, że zyskają lub wręcz przeciwnie, tracą swoje cechy typowe dla komórek macierzystych. Jest to przeważnie kontrolowane przez warunki środowiska rozwoju nowotworu [110]. Teoretycznie, w każdej odrębnej niszy tkankowej, takie zróżnicowane klonalne ekspansje mogą zachodzić niezależnie od siebie [98]. Dowodem na to mogą być zmiany fenotypu NKM raka jelita grubego, które po nabyciu zdolności do inwazji i tworzenia prze-

rzutów zmieniają swój fenotyp z CD133^{high} na CD133^{low} [78]. Należy przy tym zaznaczyć, że obecność markera CD133 nie jest niezbędna do funkcjonowania NKM raka jelita grubego i tworzenia przerzutów. W modelu mysim komórki RJG o fenotypie CD133⁺ wytwarzały bardziej agresywne kłony CD133^{neg}, które tworzyły guzy po ksenotransplantacji [92].

Efektory ścieżki Wnt w czasie embriogenezy pełnią główną rolę jako morfogeny zaangażowane w wiele procesów związanych z proliferacją, różnicowaniem, migracją komórek oraz ich polaryzacją. Po zakończeniu różnicowania ta ścieżka sygnalizacyjna jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania tkankowych komórek macierzystych i prekursorowych, np. w czasie regeneracji tkanek po ich uszkodzeniu [51,90]. Mutacje genu APC (adenomatous polyposis coli), który koduje białko stanowiące składnik kompleksu degradującego β -kateninę, wykrywane są u około 80% chorych na RJG oraz leżą u podstaw rozwoju rodzinnej postaci RJG - Familiar Adenomatous Polyposis (FAP) [56]. Mutacje APC, indukujące wzmożoną aktywność ścieżki Wnt, powodują nagromadzenie się czynnej postaci β -kateniny w jądrze komórkowym i aktywacji transkrypcji genów związanych z proliferacją i różnicowaniem się komórek nawet przy braku sygnałów ze strony ligandów szlaku Wnt. Poza tym, białko Apc łączy się m.in. z mikrotubulami, a w wyniku mutacji jego genu może doprowadzić do zaburzenia funkcji wrzeciona kariokinetycznego i do powstawania aberracji chromosomowych w czasie licznych podziałów (indukowanych przez β -kateninę) [98].

Jednak w komórkach nowotworowych RJG uszkodzeniu mogą ulegać także inne ścieżki sygnałowe regulujące proliferację, dojrzewanie, migrację i/lub apoptozę, tj. TGF- β lub Notch-1 [21,93], co prowadzi do utraty ich funkcji, związanych m.in. z zahamowaniem podziałów komórkowych. Wprawdzie wysoka ekspresja białka Notch-1 jest typowa dla prawidłowych komórek macierzystych jelita, ale jednocześnie nadekspresja Notch-1 jest jednym z molekularnych wyróżników NKM w RJG. Wykazano, że ekspresja Notch-1 jest 10-30 razy wyższa w komórkach RJG pobranych od pacjentów w porównaniu z komercyjnymi liniami nowotworowymi stosowanymi rutynowo w doświadczeniach [21,93]. Nadekspresja Notch-1 chroni komórki raka przed sygnałami proapoptotycznymi oraz powoduje represję genów związanych z różnicowaniem [21,93].

Ważnym elementem w mechanizmach karcynogenezy są mutacje w obrębie genu DCC (deleted in colorectal cancer), które wykrywane są u ponad 70% chorych na raka jelita grubego [62]. Gdy dochodzi do utraty prawidłowej funkcji tego białka, zaburzona zostaje ścieżka regulująca dojrzewanie komórek nabłonka. Gen DCC jest bardzo dużym genem (zawiera przynajmniej 29 eksonów), którego transkrypcja dzięki mechanizmom alternatywnego splicingu może dostarczać kilka produktów białkowych. Wszystkie znane izoformy DCC są glikoproteinami błonowymi mającymi jedną domeną transbłonową.

Wykazano, że utrata aktywności DCC była związana z gorszym rokowaniem u chorych na RJG i ze wzrostem częstości przerzutów [62]. Receptor DCC, prawdopodobnie przez oddziaływanie z białkiem netryną 1, reguluje proliferację i dojrzewanie komórek w obrębie krypt jelitowych. Wraz z przesuwaniem się komórek dojrzewających w górę gruczołu jelitowego, dużej redukcji ulega poziom netryny 1, co włącza proapoptotyczną funkcję receptora DCC, który aktywuje kaspazę 9 [62].

ZJAWISKA EPIGENETYCZNE ZWIĄZANE Z ROZWOJEM RAKA JELITA GRUBEGO

Procesy epigenetyczne nie są związane ze zmianą sekwencji DNA, lecz są to potencjalnie odwracalne modyfikacje prowadzące do utraty stabilności genomu i do transkrypcji genów nietypowych dla danej tkanki, które zwykle są dziedziczone w wyniku podziału komórki wyjściowej w ramach tzw. imprintingu [12]. Wydaje się, że zmiany epigenetyczne mogą wywierać dużo większy wpływ na komórki w czasie procesu nowotworzenia w porównaniu z samymi mutacjami [12,40]. Mogą być związane ze zmianą wzoru metylacji DNA lub histonów (hipometylacja, hipermetylacja, brak imprintingu) i zmianą konformacji chromatyny oraz mogą być wywołane przez cząsteczki miRNA (małe niekodujące RNA). Najważniejsze zmiany epigenetyczne leżące u podstawy rozwoju raka jelita grubego przedstawiono w tabeli 2.

Sugeruje się, że zmiana wzoru metylacji DNA, która może wpływać na ekspresję genów w taki sposób, że zajdzie transformacja nowotworowa zachodzi niezależnie od funkcji, jaką pełnić będzie dane białko (białka ścieżek sygnalizacyjnych, adhezyjne, receptorowe czy transportowe), lecz raczej opiera się to na istnieniu pewnych sekwencji w obrębie promotora takich genów [12,82]. Hipermetylacja wysp CpG może unieczynnić fragmenty DNA, w obrębie których znajdują się geny supresorowe [48]. Znaczenie CIMP (CpG Island Methylator Phenotype) dla rozwoju RJG po raz pierwszy opisano w 1999 r. [105]. U pacjentów ze sporadyczną postacią RJG z niestabilnością mikrosatelitarną o fenotypie CIMP+, obserwowano częściej mutacje genu K-RAS, a rzadziej mutacje genu TP53 w porównaniu z grupą CIMP- [105].

MIKROŚRODOWISKO NOWOTWOROWYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH RAKA JELITA GRUBEGO

Nisza tkankowa komórek macierzystych w obrębie krypty jelita grubego jest dynamicznym środowiskiem, na które składają się komórki macierzyste i pozostałe komórki obecne w nabłonku (śluzowe, endokrynowe i limfocyty śród nabłonkowe) oraz w tkance łącznej zrębu, takie jak limfocyty, makrofagi, fibroblasty, miofibroblasty oraz miocyty, otoczone składnikami macierzy pozakomórkowej. Nisza krypty jelitowej reaguje na zmieniające się warunki otoczenia, zarówno czynników obecnych w świetle jelita, jak i w otaczającej tkance i dostosowuje się do nich zapewniając tym samym ada-

Tabela 2. Zmiany epigenetyczne leżące u podstawy rozwoju raka jelita grubego

Typ zmian epigenetycznych	Ich znaczenie dla progresji raka jelita grubego	Literatura
Hipometylacja	<p>Powoduje aktywację transkrypcji protoonkogenów.</p> <p>Występuje u 8-10% gruczolaków okrężnicy i gruczolakoraków.</p> <p>Typowa dla retrotranspozonów LINE-1, które poprzez swoje zdolności do przemieszczania się w obrębie genomu odpowiadają za rekombinację nieuprawnioną (niezależną od sekwencji homologicznej).</p>	[18,19,37]
Hipermetylacja	<p>Hipermetylacja promotorów genów dla białek w obrębie wysp CpG prowadzi do represji ekspresji wielu genów.</p> <p>Zostało to opisane dla promotorów genów białek supresorowych/ onkogennych:</p> <ul style="list-style-type: none"> • UCHL1 (ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1), • p16 (inhibitor kompleksów cyklin i kinaz zależnych od cyklin), • DKK-1 (antagonista białka Wnt), • APC (adenomatous polyposis coli), • ID4 (DNA binding/Inhibitor of differentiation family of transcription factors), • HIP1/TPEF (transmembrane protein containing epidermal growth factor and follistatin domain). 	[20,27,38,105,108,117]
Zanik imprintingu	<p>Obserwowany u około 40% pacjentów.</p> <p>Brak metylacji genu c-myc w obrębie sekwencji 5'-CCGG-3' powoduje wzrost ekspresji tego genu.</p> <p>Geny dla białek CDH3 (P-kadheryna) i CD133 ulegają demetylacji w większości przypadków zaawansowanych raków jelita grubego.</p> <p>U 85-91% pacjentów z niestabilnością mikrosatelitarną wykryto zanik imprintingu w obrębie obu alleli genu dla czynnika wzrostu IGF2 (insulin-like growth factor 2).</p>	[23,38,85]
miRNA	<p>Małe niekodujące cząsteczki o długości 19-22 nukleotydów.</p> <p>Odpowiadają za aktywację transkrypcji poprzez wiązanie się do sekwencji 3'-UTR cząsteczki mRNA lub regulują funkcje samych genów.</p> <p>Szacuje się, że aż 30% wszystkich genów dla białek posiada w swoich promotorach miejsca wiązania dla miRNA.</p> <p>Cząsteczka miRNA-21 reguluje ekspresję genów supresorowych - genów białek zaangażowanych w tworzenie przerzutów:</p> <p>Tropomiozyna 1 (TPM1), PDCD4 (programmed cell death 4 protein), Maspina.</p> <p>Ekspresja genów dla tych białek jest obniżana przez wzrost poziomu miRNA-21 w komórce (mi-RNA obniża poziom translacji tych białek), a inhibicja miRNA-21 zwiększa proliferację i migrację komórek nowotworowych.</p> <p>Promotor miRNA-21 zawiera sekwencję rozpoznawaną przez czynnik STAT3, który z kolei jest indukowany przez IL-6.</p> <p>IL-6 wzrasta w czasie zarówno stanu zapalnego, w czasie rozwoju nowotworu i starzenia się komórek.</p> <p>Nowotworowe komórki macierzyste raka jelita grubego odporne na chemioterapię miały podwyższony poziom miRNA-21.</p> <p>Białko p53 jest czynnikiem transkrypcyjnym dla genów cząsteczek mi-RNA-34, która:</p> <ul style="list-style-type: none"> • hamuje cykl komórkowy, • zdolność do inwazji i tworzenia przerzutów przez komórki nowotworowe, • indukuje proapoptotyczne właściwości p53. 	[6,76,82,119]
Modyfikacje histonów	<p>Całkowity zanik acetylacji histonu H4 był pierwszą zmianą tego typu opisaną dla raka jelita grubego.</p> <p>Acetylacja H3 i H4 jest kluczowa dla ekspresji 15-LOX-1 (15-lipoxygenase-1).</p> <p>Spadek transkrypcji tego białka jest typowy dla RJG.</p> <p>Hipoacetylacja H4:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Opisano dla gruczolakoraka. <p>Powoduje wyciszenie genu regulowanego przez N-myc.</p> <p>Hipoacetylacja H3:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Opisano dla raka jelita grubego z przerzutami do wątroby i dla gruczolakoraka. • Powoduje spadek transkrypcji inhibitora p21. 	[1,54,99,120]

ptację komórek macierzystych oraz optymalne warunki do ich przeżycia, proliferacji i różnicowania [90,110].

NKM, które w czasie rozwoju nowotworu zastępują prawidłowe komórki macierzyste, mają duży wpływ na swoją niszę. Wydzielają m.in. czynniki proangiogenne, co zwiększa dopływ krwi [79]. Nisza nowotworowa różni się od prawidłowej niszy krypty jelitowej obecnością zrekrutowanych prekursorowych komórek śródbłonka, makrofagów, aktywowanych fibroblastów i miofibroblastów, które mogą przybrać postać tzw. „cancer associated fibroblasts” (CAF). Komórki swoją aktywnością wspierają rozwój choroby przez indukcję angiogenezy, rekrutację prekursorów dla komórek śródbłonka oraz rearanżację macierzy pozakomórkowej. Fibroblasty i miofibroblasty kontrolują warunki niszy oraz układ odpornościowy przez wydzielanie wielu działających miejscowo cytokin i czynników wzrostu, m.in. TNF- α , IL-6, czynnika wzrostu hepatocytów (HGF), który jest aktywatorem ścieżki Wnt [61,114]. Fibroblasty wydzielają chemokiny CXCL1 i CXCL2 oraz cytokiny IL-1 β i IL-6, co zwiększa angiogenezę i progresję i choroby [29].

Populacja komórkowa, która wywiera znaczny wpływ na warunki niszy sprzyjające rozwojowi nowotworu, progresji choroby, tworzeniu przerzutów oraz oporności na leczenie to mezenchymalne komórki macierzyste (MKM). Wykazano ich obecność i aktywność w wielu rodzajach guzów litych, w tym w raku jelita grubego [55,96]. Wpływ MKM na rozwój nowotworu zaznacza się bardzo wcześnie przez wiele mechanizmów. MKM obecne w ścianie okrężnicy w odpowiedzi na stymulację IFN- γ lub TNF- α , wydzielają duże ilości czynników proangiogennych (VEGF) [55]. Rekrutują komórki śródbłonka przez wydzielanie chemokiny CXCL12 [65]. Wykazano, że wydzielana przez MKM IL-6 pobudza w prawidłowych komórkach macierzystych ekspresję markerów typowych dla NKM indukując przez to rozwój nowotworu w mysim modelu RJG [106]. Interleukina-6 indukuje sekrecję endoteliny-1 (ET-1) przez komórki nowotworowe, która jest czynnikiem chemotaktycznym endoteliocytów i ich prekursorów [45]. Wykazano to przez ksenotransplantację mieszaniny komórek linii HT-29 oraz nienowotworowych MKM do organizmu myszy. Zaobserwowano również obiecujący wynik hamowania rozwoju nowotworu u myszy po zastosowaniu przeciwciał anti-IL-6 lub anti-ET-1 [45]. Chory na RJG, w których we krwi obwodowej wykrywa się wyższe stężenia IL-6 i VEGF cechują się wyższym stopniem zaawansowania choroby i obecnością przerzutów [28,50].

ZNACZENIE INTERLEUKIN 4 I 6 W PROGRESJI RAKA JELITA GRUBEGO

Wykazano, że autokrynną sekrecją IL-4 przez komórki nowotworowe chroni je przed apoptozą i chemioterapeutykami [34,104]. Wysokie stężenia tej cytokiny

wykrywano w hodowlach komórek RJG o fenotypie CD133⁺ i Msi⁺, a brak jej było w czasie hodowli prawidłowych kolonocytów [103]. Jednocześnie, blokowanie receptora IL-4 lub indukowanie mutacji w obrębie genu tej cytokiny, przywracało ich wrażliwość na oxaliplatinę, 5-fluorouracyl lub TRAIL. Miało to bezpośredni związek ze spadkiem ekspresji białek antyapoptotycznych, takich jak Bcl-xL, cFlip oraz Ped, których wysoki poziom obserwuje się w komórkach raka jelita grubego. Zjawisko to obserwowano zarówno w dojrzałych komórkach guza CD133^{neg}, jak i w NKM CD133⁺ [103].

Interleukina 6 jest wydzielana przez aktywowane makrofagi, monocyty oraz same komórki nowotworowe. W badaniach *in vitro* wykazano, że IL-6 stymuluje proliferację komórek różnych linii RJG i wzrost kolonii NKM w sposób zależny od dawki [42,87], a także zwiększa inwazyjność komórek nowotworowych oraz indukuje angiogenezę [42,87]. Podwyższone stężenie IL-6 w surowicy krwi u chorych na RJG ze średnim zaawansowaniem choroby sugeruje jej wpływ na progresję choroby [15,16]. W badaniach *in vitro* IL-6 wiązała się do swojego rozpuszczalnego receptora, który następnie indukował fosforylację STAT3 i podziały komórek nowotworowych [7,8]. Mechanizm, który odpowiada za wzrost stężenia IL-6 w surowicy krwi chorych na RJG nie jest jeszcze jednoznacznie wyjaśniony. Jedną z teorii mówi o roli polimorfizmu par G/C w obrębie promotora genu IL-6 (w pozycji -174). Allel z nukleotydem cytozynowym w pozycji -174 (-174C) ulega transkrypcji mniej wydajnie w porównaniu z allelem, który ma nukleotyd guanylowy (-174G) w obrębie promotora [10]. Najnowsze metaanalizy dotyczące tego problemu zdają się jednak wykluczać związek występowania którejkolwiek postaci z większym ryzykiem zachorowalności na RJG [43]. Innym wytłumaczeniem jest sugerowana amplifikacja genu IL-6, którą zaobserwowano u chorych na glejaka [101].

PODSUMOWANIE

Badania nad właściwościami somatycznych komórek macierzystych odpowiedzialnych w warunkach fizjologicznych za regenerację komórek nabłonka jelita, stanowiły punkt wyjścia do poznania cech nowotworowych komórek macierzystych w raku jelita grubego. Od czasu, gdy udowodniono istnienie populacji NKM o wysokim potencjale proliferacyjnym, są one uważane za jedną z głównych przyczyn niepowodzeń terapii przeciwnowotworowej w RJG, a tym samym stanowić powinny nowy, ważny cel terapeutyczny. Z tego względu wydaje się, że inhibitory ścieżek proproliferacyjnych i proprzeżyciowych łącznie z czynnikami cytotoksycznymi i indukującymi różnicowanie się nowotworowych komórek macierzystych mogą stworzyć podstawę bardziej skutecznego leczenia chorych na raka jelita grubego.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ashktorab H., Schäffer A.A., Darempouran M., Smoot D.T., Lee E., Brim H.: Distinct genetic alterations in colorectal cancer. *PLoS One*, 2010; 5: e8879
- [2] Balmana J., Stockwell D.H., Steyerberg E.W., Stoffel E.M., Deffenbaugh A.M., Reid J.E., Ward B., Scholl T., Hendrickson B., Tazelaar J., Burbidge L.A., Syngal S.: Prediction of MLH1 and MSH2 mutations in Lynch syndrome. *JAMA*, 2006; 296: 1469-1478
- [3] Barker N., Ridgway R.A., van Es J.H., van de Wetering M., Begthel H., van den Born M., Danenberg E., Clarke A.R., Sansom O.J., Clevers H.: Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer. *Nature*, 2009; 457: 608-611
- [4] Barker N., van Es J.H., Kuipers J., Kujala P., van den Born M., Cozijnsen M., Haegbarth A., Korving J., Begthel H., Peters P.J., Clevers H.: Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene *Lgr5*. *Nature*, 2007; 449: 1003-1007
- [5] Barnetson R.A., Tenesa A., Farrington S.M., Nicholl I.D., Cetnar-skyj R., Porteous M.E., Campbell H., Dunlop M.G.: Identification and survival of carriers of mutations in DNA mismatch-repair genes in colon cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2006; 354: 2751-2763
- [6] Bartel D.P.: MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004; 116: 281-297
- [7] Becker C., Fantini M.C., Schramm C., Lehr H.A., Wirtz S., Nikolaev A., Burg J., Strand S., Kiesslich R., Huber S., Ito H., Nishimoto N., Yoshizaki K., Kishimoto T., Galle P.R., Blessing M., Rose-John S., Neurath M.F.: TGF- β suppresses tumor progression in colon cancer by inhibition of IL-6 trans-signaling. *Immunity*, 2004; 21: 491-501
- [8] Becker C., Fantini M.C., Wirtz S., Nikolaev A., Lehr H.A., Galle P.R., Rose-John S., Neurath M.F.: IL-6 signaling promotes tumor growth in colorectal cancer. *Cell Cycle*, 2005; 4: 217-220
- [9] Bellis J., Duluc I., Romagnolo B., Perret C., Faux M.C., Dujardin D., Formstone C., Lightowler S., Ramsay R.G., Freund J.N., De Mey J.R.: The tumor suppressor *Apc* controls planar cell polarities central to gut homeostasis. *J. Cell Biol.*, 2012; 198: 331-341
- [10] Belluco C., Olivieri F., Bonafe M., Giovagnetti S., Mammano E., Scalera R., Ambrosi A., Franceschi C., Nitti D., Lise M.: -174 G>C polymorphism of interleukin 6 gene promoter affects interleukin 6 serum level in patients with colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2003; 9: 2173-2176
- [11] Bettington M., Walker N., Clouston A., Brown I., Leggett B., Whitehall V.: The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology*, 2013; 62: 367-386
- [12] Bonasio R., Tu S., Reinberg D.: Molecular signals of epigenetic states. *Science*, 2010; 330: 612-616
- [13] Botchkina I.L., Rowehl R.A., Rivadeneira D.E., Karpeh M.S.Jr., Crawford H., Dufour A., Ju J., Wang Y., Leyfman Y., Botchkina G.I.: Phenotypic subpopulations of metastatic colon cancer stem cells: genomic analysis. *Cancer Genomics Proteomics*, 2009; 6: 19-29
- [14] Brenner H., Kloor M., Pox C.P.: Colorectal cancer. *Lancet*, 2014; 383: 1490-1502
- [15] Brozek W., Bises G., Fabjani G., Cross H.S., Peterlik M.: Clone-specific expression, transcriptional regulation, and action of interleukin-6 in human colon carcinoma cells. *BMC Cancer*, 2008; 8: 13
- [16] Brozek W., Bises G., Girsch T., Cross H.S., Kaiser H.E., Peterlik M.: Differentiation-dependent expression and mitogenic action of interleukin-6 in human colon carcinoma cells: relevance for tumour progression. *Eur. J. Cancer*, 2005; 41: 2347-2354
- [17] Buczacki S.J., Zecchini H.I., Nicholson A.M., Russell R., Vermeulen L., Kemp R., Winton D.J.: Intestinal label-retaining cells are secretory precursors expressing *Lgr5*. *Nature*, 2013; 495: 65-69
- [18] Chalitchagorn K., Shuangshoti S., Hourpai N., Kongruttanachok N., Tangkijvanich P., Thong-ngam D., Voravud N., Sriuranpong V., Mutirangura A.: Distinctive pattern of LINE-1 methylation level in normal tissues and the association with carcinogenesis. *Oncogene*, 2004; 23: 8841-8846
- [19] Cheah M.S., Wallace C.D., Hoffman R.M.: Hypomethylation of DNA in human cancer cells: a site-specific change in the *c-myc* oncogene. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1984; 73: 1057-1065
- [20] Chen J., Röcken C., Lofton-Day C., Schulz H.U., Müller O., Kutzner N., Malfertheiner P., Ebert M.P.: Molecular analysis of APC promoter methylation and protein expression in colorectal cancer metastasis. *Carcinogenesis*, 2005; 26: 37-43
- [21] Chowdhury S., Howell G.M., Rajput A., Teggart C.A., Brattain L.E., Weber H.R., Chowdhury A., Brattain M.G.: Identification of a novel TGF β /PKA signaling transducing in mediating control of cell survival and metastasis in colon cancer. *PLoS One*, 2011; 6: e19335
- [22] Clevers H.: The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. *Cell*, 2013; 154: 274-284
- [23] Cui H., Horon I.L., Ohlsson R., Hamilton S.R., Feinberg A.P.: Loss of imprinting in normal tissue of colorectal cancer patients with microsatellite instability. *Nat. Med.*, 1998; 4: 1276-1280
- [24] Dalerba P., Dylla S.J., Park I.K., Liu R., Wang X., Cho R.W., Hoey T., Gurney A., Huang E.H., Simeone D.M., Shelton A.A., Parmiani G., Castelli C., Clarke M.F.: Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 10158-10163
- [25] de Lau W., Barker N., Low T.Y., Koo B.K., Li V.S., Teunissen H., Kujala P., Haegbarth A., Peters P.J., van de Wetering M., Stange D.E., van Es J.E., Guardavaccaro D., Schasfoort R.B., Mohri Y., Nishimori K., Mohammed S., Heck A.J., Clevers H.: *Lgr5* homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling. *Nature*, 2011; 476: 293-297
- [26] De Mey J.R., Freund J.N.: Understanding epithelial homeostasis in the intestine: an old battlefield of ideas, recent breakthroughs and remaining controversies. *Tissue Barriers*, 2013; 1: e24965
- [27] Ebert M.P., Mooney S.H., Tonnes-Priddy L., Lograsso J., Hoffmann J., Chen J., Röcken C., Schulz H.U., Malfertheiner P., Lofton-Day C.: Hypermethylation of the TPEF/HPP1 gene in primary and metastatic colorectal cancers. *Neoplasia*, 2005; 7: 771-778
- [28] Eldesoky A., Shouma A., Mosaad Y., Elhawary A.: Clinical relevance of serum vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in patients with colorectal cancer. *Saudi J. Gastroenterol.*, 2011; 17: 170-173
- [29] Erez N., Truitt M., Olson P., Arron S.T., Hanahan D.: Cancer-associated fibroblasts are activated in incipient neoplasia to orchestrate tumor-promoting inflammation in an NF- κ B-dependent manner. *Cancer Cell*, 2010; 17: 135-147
- [30] Escobar M., Nicolas P., Sangar F., Laurent-Chabalier S., Clair P., Joubert D., Jay P., Legraverend C.: Intestinal epithelial stem cells do not protect their genome by asymmetric chromosome segregation. *Nat. Commun.*, 2011; 2: 258
- [31] Fábán A., Barok M., Vereb G., Szöllosi J.: Die hard: are cancer stem cells the Bruce Willises of tumor biology? *Cytometry A*, 2009; 75: 67-74
- [32] Fafílek B., Krausová M., Vojtechová M., Pospíchalová V., Tumorová L., Sloncová E., Huránová M., Stancíková J., Hlavatá A., Svec J., Sedláček R., Luksan O., Oliverius M., Voska L., Jirsa M., Paces J., Kolar M., Krivjanská M., Klimesová K., Tlaskalová-Hogenová H., Korinek V.: Troy, a tumor necrosis factor receptor family member, interacts with *Lgr5* to inhibit wnt signaling in intestinal stem cells. *Gastroenterology*, 2013; 144: 381-391
- [33] Fearon E.R., Vogelstein B.: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 1990; 61: 759-767

- [34] Francipane M.G., Alea M.P., Lombardo Y., Todaro M., Medema J.P., Stassi G.: Crucial role of interleukin-4 in the survival of colon cancer stem cells. *Cancer Res.*, 2008; 68: 4022-4025
- [35] Furuyama K., Kawaguchi Y., Akiyama H., Horiguchi M., Kodama S., Kuhara T., Hosokawa S., Elbahrawy A., Soeda T., Koizumi M., Masui T., Kawaguchi M., Takaori K., Doi R., Nishi E. i wsp.: Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. *Nat. Genet.*, 2011; 43: 34-41
- [36] Gândara R.M., Mahida Y.R., Potten C.S.: Regional differences in stem and transit cell proliferation and apoptosis in the terminal ileum and colon of mice after 12 Gy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2012; 82: e521-528
- [37] Goelz S.E., Vogelstein B., Hamilton S.R., Feinberg A.P.: Hypomethylation of DNA from benign and malignant human colon neoplasms. *Science*, 1985; 228: 187-193
- [38] Goto T., Mizukami H., Shirahata A., Sakata M., Saito M., Ishibashi K., Kigawa G., Nemoto H., Sanada Y., Hibi K.: Aberrant methylation of the p16 gene is frequently detected in advanced colorectal cancer. *Anticancer Res.*, 2009; 29: 275-277
- [39] Gregorieff A., Stange D.E., Kujala P., Begthel H., van den Born M., Korving J., Peters P.J., Clevers H.: The ets-domain transcription factor Spdef promotes maturation of goblet and paneth cells in the intestinal epithelium. *Gastroenterology*, 2009; 137: 1333-1345
- [40] Hanahan D., Weinberg R.A.: The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; 100: 57-70
- [41] Haraguchi N., Ohkuma M., Sakashita H., Matsuzaki S., Tanaka F., Mimori K., Kamohara Y., Inoue H., Mori M.: CD133+CD44+ population efficiently enriches colon cancer initiating cells. *Ann. Surg. Oncol.*, 2008; 15: 2927-2933
- [42] Hsu C.P., Chung Y.C.: Influence of interleukin-6 on the invasiveness of human colorectal carcinoma. *Anticancer Res.*, 2006; 26: 4607-4614
- [43] Hu J.J., Wang Z.T., Zhong J.: Lack of association between the interleukin 6 gene -174G>C polymorphism and colorectal cancer: evidence from a meta-analysis. *Genet. Mol. Res.*, 2013; 12: 2205-2214
- [44] Huang E.H., Hynes M.J., Zhang T., Ginestier C., Dontu G., Appelman H., Fields J.Z., Wicha M.S., Boman B.M.: Aldehyde dehydrogenase 1 is a marker for normal and malignant human colonic stem cells (SC) and tracks SC overpopulation during colon tumorigenesis. *Cancer Res.*, 2009; 69: 3382-3389
- [45] Huang W.H., Chang M.C., Tsai K.S., Hung M.C., Chen H.L., Hung S.C.: Mesenchymal stem cells promote growth and angiogenesis of tumors in mice. *Oncogene*, 2013; 32: 4343-4354
- [46] Isoda T., Nakatsu Y., Yamauchi K., Piao J., Yao T., Honda H., Nakabepu Y., Tsuzuki T.: Abnormality in Wnt signaling is causatively associated with oxidative stress-induced intestinal tumorigenesis in MUTYH-null mice. *Int. J. Biol. Sci.*, 2014; 10: 940-947
- [47] Itzkovitz S., Blat I.C., Jacks T., Clevers H., van Oudenaarden A.: Optimality in the development of intestinal crypts. *Cell*, 2012; 148: 608-619
- [48] Jass J.R.: Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology*, 2007; 50: 113-130
- [49] King J.B., von Furstenberg R.J., Smith B.J., McNaughton K.K., Galanko J.A., Henning S.J.: CD24 can be used to isolate Lgr5+ putative colonic epithelial stem cells in mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2012; 303: G443-G452
- [50] Knüpfer H., Preiss R.: Serum interleukin-6 levels in colorectal cancer patients - a summary of published results. *Int. J. Colorectal Dis.*, 2010; 25: 135-140
- [51] Krausova M., Korinek V.: Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer. *Cell Signal.*, 2014; 26: 570-579
- [52] Lapidot T., Sirard C., Vormoor J., Murdoch B., Hoang T., Caceres-Cortes J., Minden M., Paterson B., Caligiuri M.A., Dick J.E.: A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 1994; 367: 645-648
- [53] Leedham S.J.: Measuring stem cell dynamics in the human colon - where there's a wiggle, there's a way. *J. Pathol.*, 2014; 234: 292-295
- [54] Li Q., Chen H.: Transcriptional silencing of N-Myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1) in metastatic colon cancer cell line SW620. *Clin. Exp. Metastasis*, 2011; 28: 127-135
- [55] Liu Y., Han Z.P., Zhang S.S., Jing Y.Y., Bu X.X., Wang C.Y., Sun K., Jiang G.C., Zhao X., Li R., Gao L., Zhao Q.D., Wu M.C., Wei L.X.: Effects of inflammatory factors on mesenchymal stem cells and their role in the promotion of tumor angiogenesis in colon cancer. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 25007-25015
- [56] Lynch H.T., de la Chapelle A.: Hereditary colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 919-932
- [57] Magney J.E., Erlandsen S.L., Bjercknes M.L., Cheng H.: Scanning electron microscopy of isolated epithelium of the murine gastrointestinal tract: morphology of the basal surface and evidence for paracrinelike cells. *Am. J. Anat.*, 1986; 177: 43-53
- [58] Marshman E., Booth C., Potten C.S.: The intestinal epithelial stem cell. *Bioessays*, 2002; 24: 91-98
- [59] Mathonnet M., Perraud A., Christou N., Akil H., Melin C., Battu S., Jauberteau M.O., Denizot Y.: Hallmarks in colorectal cancer: angiogenesis and cancer stem-like cells. *World J. Gastroenterol.*, 2014; 20: 4189-4196
- [60] May R., Riehl T.E., Hunt C., Sureban S.M., Anant S., Houchen C.W.: Identification of a novel putative gastrointestinal stem cell and adenoma stem cell marker, doublecortin and CaM kinase-like-1, following radiation injury and in adenomatous polyposis coli/multiple intestinal neoplasia mice. *Stem Cells*, 2008; 26: 630-637
- [61] Medema J.P., Vermeulen L.: Microenvironmental regulation of stem cells in intestinal homeostasis and cancer. *Nature*, 2011; 474: 318-326
- [62] Mehlen P., Fearon E.R.: Role of the dependence receptor DCC in colorectal cancer pathogenesis. *J. Clin. Oncol.*, 2004; 22: 3420-3428
- [63] Menendez J.A., Joven J., Cufi S., Corominas-Faja B., Oliveras-Ferreros C., Cuyas E., Martin-Castillo B., López-Bonet E., Alarcón T., Vazquez-Martin A.: The Warburg effect version 2.0: metabolic reprogramming of cancer stem cells. *Cell Cycle*, 2013; 12: 1166-1179
- [64] Metcalfe C., Kljavin N.M., Ybarra R., de Sauvage F.J.: Lgr5+ stem cells are indispensable for radiation-induced intestinal regeneration. *Cell Stem Cell*, 2014; 14: 149-159
- [65] Mishra P.J., Mishra P.J., Humeniuk R., Medina D.J., Alexe G., Mesirow J.P., Ganesan S., Glod J.W., Banerjee D.: Carcinoma-associated fibroblast-like differentiation of human mesenchymal stem cells. *Cancer Res.*, 2008; 68: 4331-4339
- [66] Montgomery R.K., Carlone D.L., Richmond C.A., Farilla L., Kranendonk M.E., Henderson D.E., Baffour-Awuah N.Y., Ambruzs D.M., Fogli L.K., Algra S., Breault D.T.: Mouse telomerase reverse transcriptase (mTert) expression marks slowly cycling intestinal stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 179-184
- [67] Nishimura S., Wakabayashi N., Toyoda K., Kashima K., Mitsu-fuji S.: Expression of Musashi-1 in human normal colon crypt cells: a possible stem cell marker of human colon epithelium. *Dig. Dis. Sci.*, 2003; 48: 1523-1529
- [68] O'Brien C.A., Pollett A., Gallinger S., Dick J.E.: A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*, 2007; 445: 106-110
- [69] Paldino E., Tesori V., Casalbore P., Gasbarrini A., Puglisi M.A.: Tumor initiating cells and chemoresistance: which is the best strategy to target colon cancer stem cells? *Biomed. Res. Int.*, 2014; 2014: 859871

- [70] Pancione M., Giordano G., Remo A., Febbraro A., Sabatino L., Manfrin E., Ceccarelli M., Colantuoni V.: Immune escape mechanisms in colorectal cancer pathogenesis and liver metastasis. *J. Immunol. Res.*, 2014; 2014: 686879
- [71] Potten C.S.: Extreme sensitivity of some intestinal crypt cells to X and gamma irradiation. *Nature*, 1977; 269: 518-521
- [72] Potten C.S.: Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. *Philos. Trans R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 1998; 353: 821-830
- [73] Potten C.S., Loeffler M.: A comprehensive model of the crypts of the small intestine of the mouse provides insight into the mechanisms of cell migration and the proliferation hierarchy. *J. Theor. Biol.*, 1987; 127: 381-391
- [74] Potten C.S., Owen G., Booth D.: Intestinal stem cells protect their genome by selective segregation of template DNA strands. *J. Cell Sci.*, 2002; 115: 2381-2388
- [75] Powell A.E., Wang Y., Li Y., Poulin E.J., Means A.L., Washington M.K., Higginbotham J.N., Juchheim A., Prasad N., Levy S.E., Guo Y., Shyr Y., Aronow B.J., Haigis K.M., Franklin J.L., Coffey R.J.: The pan-ErbB negative regulator *Lgr1* is an intestinal stem cell marker that functions as a tumor suppressor. *Cell*, 2012; 149: 146-158
- [76] Raver-Shapira N., Marciano E., Meiri E., Spector Y., Rosenfeld N., Moskowitz N., Bentwich Z., Oren M.: Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis. *Mol. Cell*, 2007; 26: 731-743
- [77] Ricci-Vitiani L., Fabrizi E., Palio E., De Maria R.: Colon cancer stem cells. *J. Mol. Med.*, 2009; 87: 1097-1104
- [78] Ricci-Vitiani L., Lombardi D.G., Pilozzi E., Biffoni M., Todaro M., Peschle C., De Maria R.: Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature*, 2007; 445: 111-115
- [79] Ricci-Vitiani L., Pallini R., Biffoni M., Todaro M., Invernici G., Cenci T., Maira G., Parati E.A., Stassi G., Larocca L.M., De Maria R.: Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells. *Nature*, 2010; 468: 824-828
- [80] Rogler G.: Chronic ulcerative colitis and colorectal cancer. *Cancer Lett.*, 2014; 345: 235-241
- [81] Rothenberg M.E., Nusse Y., Kalisky T., Lee J.J., Dalerba P., Scherren F., Lobo N., Kulkarni S., Sim S., Qian D., Beachy P.A., Pasricha P.J., Quake S.R., Clarke M.F.: Identification of a cKit(+) colonic crypt base secretory cell that supports *Lgr5*(+) stem cells in mice. *Gastroenterology*, 2012; 142: 1195-1205
- [82] Roy S., Majumdar A.P.: Cancer stem cells in colorectal cancer: genetic and epigenetic changes. *J. Stem Cell Res. Ther.*, 2012; Suppl. 7
- [83] Salama P., Platell C.: Colorectal cancer stem cells. *ANZ J. Surg.*, 2009; 79: 697-702
- [84] Sangiorgi E., Capecchi M.R.: *Bmi1* is expressed *in vivo* in intestinal stem cells. *Nat. Genet.*, 2008; 40: 915-920
- [85] Sasaki J., Konishi F., Kawamura Y.J., Kai T., Takata O., Tsukamoto T.: Clinicopathological characteristics of colorectal cancers with loss of imprinting of insulin-like growth factor 2. *Int. J. Cancer*, 2006; 119: 80-83
- [86] Sato T., Vries R.G., Snippert H.J., van de Wetering M., Barker N., Stange D.E., van Es J.H., Abo A., Kujala P., Peters P.J., Clevers H.: Single *Lgr5* stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche. *Nature*, 2009; 459: 262-265
- [87] Schneider M.R., Hoeflich A., Fischer J.R., Wolf E., Sordat B., Lahm H.: Interleukin-6 stimulates clonogenic growth of primary and metastatic human colon carcinoma cells. *Cancer Lett.*, 2000; 151: 31-38
- [88] Schwitalla S., Fingerle A.A., Cammareri P., Nebelsiek T., Goktuna S.I., Ziegler P.K., Canli O., Heijmans J., Huels D.J., Moreaux G., Rupec R.A., Gerhard M., Schmid R., Barker N., Clevers H. i wsp.: Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties. *Cell*, 2013; 152: 25-38
- [89] Sell S.: On the stem cell origin of cancer. *Am. J. Pathol.*, 2010; 176: 2584-2594
- [90] Shaker A., Rubin D.C.: Intestinal stem cells and epithelial-mesenchymal interactions in the crypt and stem cell niche. *Transl. Res.*, 2010; 156: 180-187
- [91] Shih I.M., Wang T.L., Traverso G., Romans K., Hamilton S.R., Ben-Sasson S., Kinzler K.W., Vogelstein B.: Top-down morphogenesis of colorectal tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 2640-2645
- [92] Shmelkov S.V., Butler J.M., Hooper A.T., Hormigo A., Kushner J., Milde T., St Clair R., Baljovic M., White I., Jin D.K., Chadburn A., Murphy A.J., Valenzuela D.M., Gale N.W., Thurston G. i wsp.: CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133+ and CD133- metastatic colon cancer cells initiate tumors. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 2111-2120
- [93] Sikandar S.S., Pate K.T., Anderson S., Dizon D., Edwards R.A., Waterman M.L., Lipkin S.M.: NOTCH signaling is required for formation and self-renewal of tumor-initiating cells and for repression of secretory cell differentiation in colon cancer. *Cancer Res.*, 2010; 70: 1469-1478
- [94] Snippert H.J., Schepers A.G., van Es J.H., Simons B.D., Clevers H.: Biased competition between *Lgr5* intestinal stem cells driven by oncogenic mutation induces clonal expansion. *EMBO Rep.*, 2014; 15: 62-69
- [95] Solanas G., Batlle E.: Control of cell adhesion and compartmentalization in the intestinal epithelium. *Exp. Cell Res.*, 2011; 317: 2695-2701
- [96] Stagg J.: Mesenchymal stem cells in cancer. *Stem Cell Rev.*, 2008; 4: 119-124
- [97] Steinhauser M.L., Bailey A.P., Senyo S.E., Guillermier C., Perlestein T.S., Gould A.P., Lee R.T., Lechene C.P.: Multi-isotope imaging mass spectrometry quantifies stem cell division and metabolism. *Nature*, 2012; 481: 516-519
- [98] Takebe N., Ivy S.P.: Controversies in cancer stem cells: targeting embryonic signaling pathways. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 3106-3112
- [99] Tamagawa H., Oshima T., Shiozawa M., Morinaga S., Nakamura Y., Yoshihara M., Sakuma Y., Kameda Y., Akaike M., Masuda M., Imada T., Miyagi Y.: The global histone modification pattern correlates with overall survival in metachronous liver metastasis of colorectal cancer. *Oncol. Rep.*, 2012; 27: 637-642
- [100] Tan S., Barker N.: Epithelial stem cells and intestinal cancer. *Semin. Cancer Biol.*, 2015; 32: 40-53
- [101] Tchirkov A., Khalil T., Chautard E., Mokhtari K., Véronese L., Irthum B., Vago P., Kémény J.L., Verrelle P.: Interleukin-6 gene amplification and shortened survival in glioblastoma patients. *Br. J. Cancer*, 2007; 96: 474-476
- [102] Tian H., Biehs B., Warming S., Leong K.G., Rangell L., Klein O.D., de Sauvage F.J.: A reserve stem cell population in small intestine renders *Lgr5*-positive cells dispensable. *Nature*, 2011; 478: 255-259
- [103] Todaro M., Alea M.P., Di Stefano A.B., Cammareri P., Vermeulen L., Iovino F., Tripodo C., Russo A., Gulotta G., Medema J.P., 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
- [104] Todaro M., Perez Alea M., Scopelliti A., Medema J.P., Stassi G.: IL-4-mediated drug resistance in colon cancer stem cells. *Cell Cycle*, 2008; 7: 309-313
- [105] Toyota M., Ahuja N., Ohe-Toyota M., Herman J.G., Baylin S.B., Issa J.P.: CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 8681-8686
- [106] Tsai K.S., Yang S.H., Lei Y.P., Tsai C.C., Chen H.W., Hsu C.Y., Chen L.L., Wang H.W., Miller S.A., Chiou S.H., Hung M.C., Hung S.C.:

Mesenchymal stem cells promote formation of colorectal tumors in mice. *Gastroenterology*, 2011; 141: 1046-1056

[107] Uchida H., Yamazaki K., Fukuma M., Yamada T., Hayashida T., Hasegawa H., Kitajima M., Kitagawa Y., Sakamoto M.: Overexpression of leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5 in colorectal cancer. *Cancer Sci.*, 2010; 101: 1731-1737

[108] Umetani N., Takeuchi H., Fujimoto A., Shinozaki M., Bilchik A.J., Hoon D.S.: Epigenetic inactivation of ID4 in colorectal carcinomas correlates with poor differentiation and unfavorable prognosis. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 7475-7483

[109] Upadhyay G., Yin Y., Yuan H., Li X., Derynck R., Glazer R.I.: Stem cell antigen-1 enhances tumorigenicity by disruption of growth differentiation factor-10 (GDF10)-dependent TGF- β signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 7820-7825

[110] Vaiopoulos A.G., Kostakis I.D., Koutsilieris M., Papavassiliou A.G.: Colorectal cancer stem cells. *Stem Cells*, 2012; 30: 363-371

[111] van der Flier L.G., Haegerbarth A., Stange D.E., van de Wetering M., Clevers H.: OLFM4 is a robust marker for stem cells in human intestine and marks a subset of colorectal cancer cells. *Gastroenterology*, 2009; 137: 15-17

[112] van der Flier L.G., van Gijn M.E., Hatzis P., Kujala P., Haegerbarth A., Stange D.E., Begthel H., van den Born M., Guryev V., Oving I., van Es J.H., Barker N., Peters P.J., van de Wetering M., Clevers H.: Transcription factor achaete scute-like 2 controls intestinal stem cell fate. *Cell*, 2009; 136: 903-912

[113] van Es J.H., Sato T., van de Wetering M., Lyubimova A., Nee A.N., Gregorieff A., Sasaki N., Zeinstra L., van den Born M., Korving J., Martens A.C., Barker N., van Oudenaarden A., Clevers H.: Dll1+ secretory progenitor cells revert to stem cells upon crypt damage. *Nat. Cell Biol.*, 2012; 14: 1099-1104

[114] Vermeulen L., De Sousa E.M., van der Heijden M., Cameron K.,

de Jong J.H., Borovski T., Tuynman J.B., Todaro M., Merz C., Rodermond H., Sprick M.R., Kemper K., Richel D.J., Stassi G., Medema J.P.: Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat. Cell Biol.*, 2010; 12: 468-476

[115] Vermeulen L., Todaro M., de Sousa Mello F., Sprick M.R., Kemper K., Perez Alea M., Richel D.J., Stassi G., Medema J.P.: Single-cell cloning of colon cancer stem cells reveals a multi-lineage differentiation capacity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 13427-13432

[116] Wong V.W., Stange D.E., Page M.E., Buczacck S., Wabik A., Itami S., van de Wetering M., Poulosom R., Wright N.A., Trotter M.W., Watt F.M., Winton D.J., Clevers H., Jensen K.B.: Lrig1 controls intestinal stem-cell homeostasis by negative regulation of ErbB signalling. *Nat. Cell Biol.*, 2012; 14: 401-408

[117] Yu J., Tao Q., Cheung K.F., Jin H., Poon F.F., Wang X., Li H., Cheng Y.Y., Röcken C., Ebert M.P., Chan A.T., Sung J.J.: Epigenetic identification of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 as a functional tumor suppressor and biomarker for hepatocellular carcinoma and other digestive tumors. *Hepatology*, 2008; 48: 508-518

[118] Zhu L., Gibson P., Curre D.S., Tong Y., Richardson R.J., Bayazitov I.T., Poppleton H., Zakharenko S., Ellison D.W., Gilbertson R.J.: Prominin 1 marks intestinal stem cells that are susceptible to neoplastic transformation. *Nature*, 2009; 457: 603-607

[119] Zhu S., Si M.L., Wu H., Mo Y.Y.: MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 14328-14336

[120] Zuo X., Morris J.S., Shureiqi I.: Chromatin modification requirements for 15-lipoxygenase-1 transcriptional reactivation in colon cancer cells. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 31341-31347

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.