

WYBRANE MARKERY NOWOTWOROWYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH (CSCs) W RAKU JAJNIKA

SELECTED CANCER STEM CELLS (CSCs) MARKERS IN OVARIAN CANCER

Natalia IŻYCKA¹, Ewa NOWAK-MARKWITZ¹, Karolina STERZYŃSKA²

¹Klinika Onkologii Ginekologicznej, Katedra Ginekologii, Położnictwa
i Onkologii Ginekologicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

²Katedra i Zakład Histologii i Embriologii,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie: Rak jajnika pozostaje wiodącą przyczyną zgonów wśród pacjentek chorujących na nowotwory ginekologiczne. Zbudowany jest z heterogenicznej populacji komórek wśród których występuje rzadka subpopulacja – nowotworowe komórki macierzyste (ang. *cancer stem cells*, CSCs) – która ze względu na swoje charakterystyczne cechy jest odporna na terapię chemioterapeutykami. Identyfikacja i izolacja CSCs opiera się przede wszystkim na określeniu ekspresji specyficznych markerów powierzchniowych. W odniesieniu do raka jajnika najczęściej wymieniane są, w różnych konfiguracjach: CD44, CD133 i ostatnio ALDH1A. Precyzyjna charakterystyka markerów CSCs może być atrakcyjnym celem terapii celowanych, które mogłyby uwrażliwić komórki raka jajnika, w tym CSCs, na podawane standardowo cytostatyki.

Słowa kluczowe: rak jajnika, nowotworowe komórki macierzyste, markery nowotworowych komórek macierzystych

Summary: Ovarian cancer remains the leading cause of death among patients suffering from gynecological tumors. It is composed of a heterogeneous population of cells, where a rare sub-population – cancer stem cells (CSCs) – is found. CSCs, due to their characteristic features, remain resistant to chemotherapeutic therapies. The identification and isolation of CSCs are based primarily on the expression of specific surface markers. The most often mentioned in various configurations concerning ovarian cancer are CD44, CD133, and recently ALDH1A. CSC markers' precise characterization may lead to more targeted therapies that could sensitize ovarian cancer cells, including CSCs, to standard cytostatics.

Keywords: ovarian cancer, cancer stem cells, cancer stem cells' markers

WPROWADZENIE

Mimo ostatnich postępów w leczeniu raka jajnika, jest on nadal jest wiodącą przyczyną zgonów wśród pacjentek chorujących na nowotwory ginekologiczne. W momencie diagnozy około 70% pacjentek cierpi na zaawansowaną chorobę z obecnością przerzutów do otrzewnej jamy brzusznej, narządów mięszkowych czy sieci większej [6]. Rozsiew raka jajnika w momencie diagnozy w istotny sposób utrudnia przeprowadzenie optymalnej cytoredukcji, która pozostaje podstawą leczenia, zazwyczaj w skojarzeniu z chemioterapią. U większości chorych obserwuje się dobrą odpowiedź na standardową pierwszorazową chemioterapię opartą na taksanach i związkach platyny [29]. Niestety, u ponad 70% pacjentek dochodzi do nawrotu choroby i rozwoju chemiooporności, co w istotny sposób pogarsza rokowania i czas przeżycia chorych [61, 37]. To właśnie wysoki stopień zaawansowania choroby w momencie diagnozy oraz oporność na leki cytotoksyczne stopniowo rozwijana przez nowotwór stanowią główne przyczyny niekorzystnych wskaźników przeżywalności chorych z rakiem jajnika [62]. Mimo wieloletnich badań, nadal nie udaje się wyprzedzić agresywnego charakteru raka jajnika na tyle, by w istotny sposób poprawić rokowania pacjentek.

NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZYTE (CSCs, CANCER STEM CELLS)

Nawrót nowotworu, uznawany za przyczynę niepowodzeń w leczeniu, jest zazwyczaj mniej wrażliwy na aktualnie stosowane strategie chemioterapii. Rak jajnika zbudowany jest z heterogennej populacji komórek o odmiennych właściwościach i funkcjach. Wśród nich występuje rzadka subpopulacja komórek, która ze względu na swoje charakterystyczne cechy nie poddaje się skutkom obecnej terapii cytotoksycznej i powoduje nawrót choroby [19, 63, 27]. Właściwości takie jak zdolność do asymetrycznych podziałów, potencjał samoodnowy czy różnicowania to cechy jakie posiadają komórki macierzyste [8]. Dlatego subpopulację komórek o takich właściwościach, obecnych w obrębie komórek guza nazwano nowotworowymi komórkami macierzystymi (ang. *Cancer Stem Cells*, CSCs.).

Coraz więcej doniesień opisuje CSCs jako populację komórek odpowiedzialną za procesy nowotworzenia, chemiooporności nowotworu czy powstawanie przerzutów i wznowy [59]. Dlatego hipoteza nowotworowych komórek macierzystych (Cancer Stem Cell Model) pojawiła się jako kolejny model rozwoju nowotworów, który zakłada, że tylko CSCs posiadają nieograniczony potencjał do samoodnowy oraz możliwość różnicowania do bardziej wyspecjalizowanych

komórek stanowiących masę guza, tym samym powodując rozwój nowotworu [46]. Dodatkowo, nowotworowe komórki macierzyste jako bardziej odporne na działanie chemioterapeutyków, mają szansę przetrwać terapię i mogą być odpowiedzialne za odtworzenie guza po zakończonym leczeniu, co więcej guza składającego się w dużej mierze z komórek dużo bardziej odpornych na leki [11]. Model nowotworowych komórek macierzystych różni się od klasycznego modelu ewolucji klonalnej (Clonal Evolution Model), który zakłada, że każda komórka w guzie ma taki sam potencjał onkogenny i poprzez hamowanie szlaków apoptozy lub aktywację szlaków sygnalizacji komórkowej prowadzących do dalszych podziałów i proliferacji komórek powoduje rozwój nowotworu [52].

Nowotworowe komórki macierzyste opisywane są jako jedno z potencjalnych źródeł niekorzystnych cech wielu raków, w tym nabłonkowego raka jajnika. Poza powolnym tempem podziałów komórkowych, potencjał do przerzutowania, tendencje do tworzenia wznowy czy oporność na cytostatyki to tylko niektóre z potencjalnych cech promujących powstanie lekoopornej wznowy po zakończeniu leczenia. Komórki te pozostają niejako „w uśpieniu” w stadium niezróżnicowania w guzie pierwotnym i ulegają aktywacji pod wpływem czynników środowiskowych takich jak hipoksja, czy podanie cytostatyku [45, 22, 31]. Co więcej, nieograniczony potencjał do różnicowania czyni je źródłem heterogenności guza, przyczyny zróżnicowanej odpowiedzi na stosowane leki [63, 44]. Jeśli rzeczywiście przyjąć, że CSCs są przyczyną nawrotu choroby oraz oporności na chemioterapeutyki to stanowią one ważny cel w rozwoju nowych strategii leczenia, skupionych na ich eliminacji.

Identyfikacja i izolacja CSCs opiera się przede wszystkim na określeniu ekspresji specyficznych markerów powierzchniowych, często już zdefiniowanych dla normalnych komórek macierzystych.

Cechą charakterystyczną CSCs jest wysoki poziom ekspresji transporterów błonowych z rodziny ABC (szczególnie P-gp i BCRP) odpowiedzialnych za aktywne usuwanie leków z komórki, oraz obecność markerów umożliwiających ich identyfikację, które mogą być wspólne dla różnych nowotworów [25]. Nie istnieje jednak jeden pojedynczy marker identyfikujący CSCs w konkretnym typie nowotworu.

Dotychczas, opisano kilka potencjalnych markerów CSCs, w tym CD24, CD44, CD117, CD133, ALDH1 (ang. *aldehyde dehydrogenase*, ALDH) [41, 25], czy EpCAM. Część z nich jest specyficzna nowotworowo, a niektóre – jak ALDH1A – uważane są za uniwersalne markery CSCs [48]. W odniesieniu do raka jajnika najczęściej wymieniane są, w różnych konfiguracjach: CD44, CD133 i ostatnio ALDH1A [8, 19, 49]. Dlatego w niniejszym przeglądzie skupiono się na charakterystyce trzech wymienionych markerów w kontekście ich użyteczności jako czynników predykcyjnych w raku jajnika i potencjalnych celów nowych terapii przeciwnowotworowych.

CD44

CD44 jest ważnym receptorem błonowym dla kwasu hialuronowego, który bierze udział w wielu procesach komórkowych, w tym proliferacji, różnicowaniu, migracji i inwazji komórek [2, 32]. Rola białka CD44 oraz jego poszczególnych wariantów (CD44v) nie została do końca poznana, choć jak wiadomo, fizjologicznie ulega ekspresji w zarodkowych komórkach macierzystych oraz komórkach tkanki łącznej i szpiku kostnego [33].

CD 44 oraz różne izoformy tego białka pełnią różnorodną rolę w nowotworach, między innymi promując wzrost guza, przejście epithelialno – mezenchymalne, migrację komórek nowotworowych, zahamowanie procesów anty-apoptotycznych i aktywację ścieżek pro-apoptotycznych czy wreszcie oporność na chemioterapię [70, 5].

Wśród wielu potencjalnych markerów nowotworowych komórek macierzystych CD44 jest jednym z najczęściej wymienianych w raku jajnika.

Jedno z pierwszych doniesień opisujących CD44 w kontekście nadawania charakteru macierzystego komórkom raka jajnika zostało opisane przez Bapata i wsp [4], którzy odkryli w masie guza niewielką subpopulację CD44 pozytywnych komórek (CD44+), charakteryzujących się agresywnym fenotypem, zdolnością do spontanicznych podziałów komórkowych oraz nieśmiertelnością.

Na podstawie poziomu ekspresji CD44 w komórkach nowotworowych określono dwie subpopulacje: CD44+ oraz CD44-, które zostały następnie zdefiniowane jako typ I i typ II nabłonkowego raka jajnika (ang. *epithelial ovarian cancer cells*, EOCs). Komórki typu I okazały się być odporne na chemioterapię, podczas gdy komórki typu II były chemowrażliwe [1]. Nie był również zaskakujący fakt, że subpopulacje CD44+ i CD44- różniły się pod względem potencjału proliferacyjnego czy produkcji cytokin, gdzie populacja CD44+ różnicowała się zarówno w komórki CD44+ jak i CD44- [42].

Ostatnie doniesienia wykazały, że CD 44 jest obiecującym markerem prognostycznym w raku piersi, trzustki, żołądka, jelita grubego, wątroby, czy nowotworach głowy i szyi, w których nadekspresja tego białka związana była z istotnym pogorszeniem czasu przeżycia pacjentów, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych i innych narządów czy niższym stopniem zróżnicowania guza, a co za tym idzie, z niekorzystnym rokowaniem [70].

W raku jajnika, wyższa ekspresja CD44 w zaawansowanych nowotworach opornych na cytostatyki, w przypadku niskozróżnicowanych guzów pochodzenia nabłonkowego ma również związek z krótszym czasem przeżycia i czasem wolnym od progresji. U pacjentek z rakiem jajnika przebiegającym z wodobrzuszem zawartość komórek CD44+/CD24- przekraczająca 25% korelowała z wyższym ryzykiem wznowy oraz krótszym czasem wolnym od progresji [38]. Odwrotnie, u pacjentek z niską ekspresją białka CD44 w guzie nowotworowym zaobserwowano dłuższe czasy przeżycia i wolne od progresji. Nie są to jednak jednolite doniesienia, ponieważ istnieją

również prace, w których związek między zwiększonym poziomem ekspresji CD44, a czasem przeżycia pacjentek z rakiem jajnika nie został potwierdzony.

CD44 jako jeden z głównych markerów CSCs w raku jajnika, jest również zaangażowany w rozwój chemiooporności, co wydaje się mieć potwierdzenie w badaniach *in vitro*, w których poprzez wyciszenie ekspresji białka CD44 uzyskiwano większą wrażliwość komórek raka jajnika na cytostatyki.

Dzięki szerokiemu zaangażowaniu CD44 w różnego rodzaju procesy biologiczne, takie jak interakcje komórka-komórka, apoptoza, migracja, kancerogeneza czy przerzutowanie, ocena poziomu jego ekspresji nadal wykorzystywana jest jako narzędzie w diagnostyce patologicznej i w prognozowaniu raka jajnika w warunkach klinicznych.

CD133

CD133 jest ludzkim homologiem mysiego przezbłonowego białka prominy1, pierwotnie wykrytego w neuroepitelialnych komórkach macierzystych u myszy [66, 40]. Rola CD133 w organizmie jest nie do końca poznana, choć jako białko zlokalizowane głównie w błonie komórkowej i mikrokosmkach w szczytowej części błony komórkowej wydaje się odgrywać dużą rolę w utrzymaniu jej struktury [17, 44]. U człowieka białko to występuje fizjologicznie na powierzchni macierzystych i progenitorowych komórek hematopoietycznych [39, 12], oraz w komórkach nabłonkowych, jak i nienabłonkowych wielu tkanek, w tym gruczołu sutkowego, jądra, przewodu pokarmowego, dróg oddechowych czy łożyska.

Pomimo nie do końca poznanej funkcji CD133 w komórkach macierzystych, cząsteczka ta jest powszechnie wykorzystywana jako marker CSCs. Fenotyp CD133+ został po raz pierwszy wykorzystany przy identyfikacji i izolacji komórek macierzystych raka mózgu [53], a obecnie do izolacji CSCs w raku prostaty [7], trzustki [21], jelita grubego [48], oraz jajnika [1, 18, 14, 69].

W odniesieniu do raka jajnika, po raz pierwszy subpopulację komórek CD133+ została opisana przez zespół Baba i wsp [3]. Przebadali oni 40 różnych linii komórkowych raka jajnika, pierwotne guzy raka jajnika oraz nabłonkową frakcję komórek wyizolowanych z płynu z wodobrzusza. Poziom ekspresji oraz liczba komórek CD133 pozytywnych znacznie różniły się w zależności od linii komórkowej. Jednak komórki CD133+ dzieląc się dawały początek zarówno komórkom CD133+, jak również CD133-. Może to świadczyć o fakcie, że komórki CD133+ dzielą się asymetrycznie odnawiając pulę komórek o charakterze macierzystym oraz różnicują się w fenotypowo różne komórki potomne. Co więcej, populacja komórek CD133+ była bardziej oporna na działanie związków platyny. Podobne wyniki uzyskano w innym badaniu, gdzie komórki CD133+ pierwotnego raka jajnika charakteryzowały się znacznie wyższym potencjałem proliferacyjnym, a ich liczba w guzie pierwotnym była znacznie większa niż w łagodnych guzach jajnikach czy przerzutach do sieci większej [18]. Niestety, CD133 ulegało

ekspresji tylko w około 40% z przebadanych linii komórkowych oraz 30% guzów pierwotnych, co może stanowić ograniczenie dla wykorzystania tego markera dla większości typów raka jajnika [3].

Badanie ekspresji CD 133, zazwyczaj w połączeniu z innymi białkami powierzchniowymi, pozwala na identyfikację CSCs raka jajnika [20]. Ekspresja tego białka w raku jajnika jest zwykle wskaźnikiem niekorzystnym prognostycznie i związana jest z krótszym czasem przeżycia, wyższym stadium zaawansowania choroby, opornością na pochodne platyny i obecnością odległych przerzutów [9].

Dane literaturowe w tym zakresie bywają jednak odmienne, co może być związane z różnicami w stosowanej metodologii lub liczebnością analizowanych przypadków. Z jednej strony Ferradina i wsp. opisali, iż wykrywanie CD133 w raku jajnika nie wnosi żadnych informacji prognostycznych dla pacjentów [18]. Natomiast inne badania, przeprowadzone na dużej grupie chorych wykazały, że ekspresja CD133 była związana z surowiczym typem raka jajnika, późnym stadium choroby, występowaniem wodobrzusza i brakiem odpowiedzi na leczenie. Co więcej, ekspresja CD133 korelowała z krótszym czasem wolnym od wznowy (ang. *progression free survival* PFE) oraz krótszym ogólnym czasem przeżycia (ang. *overall survival*, OS) [69]. Podobne wyniki opisano w innych badaniach nad rakiem jajnika sugerując, iż CD133 odgrywa istotną rolę w progresji nowotworu oraz stanowi istotny czynnik prognostyczny [52, 56, 51].

Rozważana jest również rola CD133 w generowaniu oporności na chemioterapię oraz podtrzymanie potencjału do odtwarzania i odnawiania struktury guza w trakcie leczenia onkologicznego [57]. Pomimo, że wpływ ekspresji markerów nowotworowych komórek macierzystych na oporność nowotworów na leczenie jest jeszcze słabo poznany, to istnieją już doniesienia o związku ekspresji CD133 w raku jajnika z opornością na cytostatyki. Fenotyp komórek pierwotnego raka jajnika CD133+ korelował z opornością na terapie związkami platyny [3, 57, 1].

Niezależnie od ograniczeń w metodyce badawczej stosowanej do wykrywania ekspresji CD133, oraz braku jednoznacznej wiedzy co do roli CD133 w nowotworach, z większości aktualnych badań wynika, że ocena ekspresji CD133 może mieć istotne znaczenie w przewidywaniu czasu przeżycia, czasu wolnego od choroby czy czasu wolnego od progresji w wielu typach nowotworów [36, 67, 55, 69, 52, 56, 51, 34].

ALDH1A

ALDH1A jest białkiem z rodziny dehydrogenaz aldehydowych, enzymów katalizujących proces utleniania substratów aldehydowych do odpowiadających im kwasów karboksylowych. Fizjologicznie są to białka zlokalizowane w cytozolu, gdzie uczestniczą m.in. w detoksyfikacji komórek, ochronie przed działaniem wolnych rodników tlenowych [10], czy w metabolizmie witaminy A (retinolu) i kwasu retinowego [54], istotnego czynnika aktywującego ścieżkę różnicowa-

nia komórek. Różne izoformy ALDH wykrywano w komórkach mózgu, jąder, nerek, oka, wątroby czy płuc. Wykazują dużą aktywność w wielu kluczowych dla wszystkich komórek organizmu procesach metabolicznych, w tym w rozwoju normalnych komórek macierzystych [35].

Izoforma ALDH1A jest najczęściej wykorzystywana do identyfikacji nowotworowych komórek macierzystych, jakkolwiek mechanizmy leżące u podstaw jej funkcji w tej grupie komórek nie zostały dokładnie poznane. Nie określono również, czy enzym odpowiedzialny jest za utrzymanie specyficznych właściwości komórek macierzystych czy jest tylko ich markerem. Niemniej, obecność ALDH1A wykazano w komórkach takich nowotworów jak głowy i szyi [70], rak piersi [43], jelita grubego [23], trzustki [26], oraz jajnika [24, 28]. W większości tych badań podwyższony poziom ekspresji tego markera korelował inwazyjnym charakterem guza, zwiększonym potencjałem proliferacyjnym, neoangiogenezą, opornością na leczenie chemioterapeutykami, a często również ze złą prognozą.

Wykrywanie ekspresji ALDH1 samego lub w połączeniu z innymi markerami CSCs jest obecnie powszechnie akceptowaną metodą identyfikacji CSCs w raku jajnika. Wyniki badań wskazują, że ALDH1A może być wykorzystywany jako marker proliferacji komórek, migracji, złego rokowania czy chemiooporności [64, 65, 25], a inhibicja jego ekspresji prowadzi do zwiększenia wrażliwości na leczenie [30]. Ostatnie badania wskazują natomiast, że wysoka ekspresja ALDH1A znacząco koreluje z 5-letnim czasem przeżycia oraz czasem wolnym nawrotu u pacjentów z rakiem jajnika. Nie odnotowano za to zależności z innymi danymi kliniko-patologicznymi jak FIGO, stopień zaawansowania choroby, przerzuty do węzłów chłonnych, czy wiek pacjenta [51].

W nabłonkowym raku jajnika zawartość komórek wykazujących ekspresję ALDH1A waha się między 0.2 a 10%, przy czym wyższą ekspresję tego enzymu wykazano w podtypach endometrioidalnym i śluzowym, jak również w komórkach guza po przebytej chemioterapii z użyciem związków platyny [60]. Podwyższona ekspresja wykrywana była również w typie surowicznym, gdzie związana była ze złymi rokowaniami dla pacjenta [15, 30].

ALDH i jego izoformy odgrywają również istotną rolę w oporności nowotworów na chemioterapię. Jest to prawdopodobnie związane z ich funkcją detoksyfikującą i zaangażowaniem w komórkowy metabolizm tych leków. ALDH1 pozytywne CSCs są bardziej odporne na działanie cyklofosfamidu w raku jelita grubego [16], czy antracykliny i taksany w raku piersi [13]. Oporność na pochodne platyny i taksany związaną z ekspresją ALDH1A opisano również w liniach komórkowych i tkankach pochodzących od pacjentek chorych na raka jajnika [30, 58]. Co więcej, w badaniach na liniach komórkowych, istotnie wyższą ekspresję ALDH1A wykazano w komórkach raka opornych na paklitaxel i topotekan. Co istotne, wyciszenie aktywności ALDH1A w komórkach z wykorzystaniem siRNA przywróciło wrażliwość na działanie chemioterapeutyków [30].

Z racji na szerokie spektrum nowotworów, w których ALDH1A jest wykrywany, uznaje się go obecnie za uniwersalny marker CSCs. Jako marker potencjalnie odgrywający istotną rolę w chemiooporności nowotworów złośliwych, wydaje się być atrakcyjnym celem terapii celowanych, które mogłyby uwrażliwić komórki raka, w tym CSCs, na podawane standardowo cytostatyki.

PODSUMOWANIE

Rak jajnika jest heterogennym nowotworem z histologicznie określonymi typami, gdzie z dużym prawdopodobieństwem CSCs są zaangażowane w proces jego rozwoju. Pomimo wielu badań nad próbami identyfikacji i izolacji CSCs, jak dotąd nie udało się szczegółowo scharakteryzować ich profilu. Natomiast coraz więcej dowodów wskazuje na to, iż w obrębie guza istnieje więcej niż jedna populacja CSC lub/i, że te same CSCs mogą wykazywać ekspresję różnych markerów nowotworowych komórek macierzystych. Może to wyjaśniać heterogenność raka jajnika, jego agresywny charakter, tendencje do tworzenia ognisk wznowy oraz oporność na leczenie.

Wszystkie wyżej wymienione cechy CSCs oraz ich implikacje kliniczne sprawiają, że dalsze badania nad mechanizmami warunkującymi ich aktywność wydają się bardziej niż zasadne. Stworzyłyby one szansę na opracowanie skutecznego leczenia choroby, na przykład nowych strategii terapii celowanych, ukierunkowanych właśnie na niszczenie CSCs. Co więcej, badanie ich ekspresji w guzie pierwotnym oraz ogniskach przerzutowych raka jajnika może wspomóc poznanie biologii nowotworu, ułatwić wytypowanie kandydatek mogących czerpać największe korzyści ze stosowania określonych schematów leczenia. Ponadto, być może, w przyszłości, opisywane zjawisko mogłoby stać się markerem prognostycznym ocenianym *in situ* u pacjentek z rakiem jajnika.

LITERATURA

- [1] ALVERO AB, CHEN R, FU HH, MONTAGNA M, SCHWARTZ PE, RUTHERFORD T, SILASI DA, STEFFENSEN KD, WALDSTROM M, VISINTIN I, MOR G. Molecular phenotyping of human ovarian cancer vstem cells unravels the mechanism for repair and chemoresistance. *Cell cycle* 2009; **8**:158-166.
- [2] ARUFFO A., STAMENKOVIC I., MELNICK M., UNDERHILL C. B., SEED B. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 1990; **61**: 1303-1313
- [3] BABA T, CONVERY PA, MATSUMURA N, WHITAKER RS, KONDOH E, PERRY T, HUANG Z, BENTLEY RC, MORI S, FUJII S, MARKS JR, BERCHUCK A, MURPHY SK. Epigenetic regulation of CD133 and tumorigenicity of CD133+ ovarian cancer cells. *Oncogene* 2009; **15**: 209-218.
- [4] BAPAT SA, MALI AM, KOPPIKAR CB, KURREY NK. Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 2005; **65**: 3025-3029.

- [5] BHATTACHARYA R, MITRA T, RAY CHAUDHURI S, ROY SS. Mesenchymal splice isoform of CD44 (CD44s) promotes EMT/invasion and imparts stem-like properties to ovarian cancer cells. *J Cell Biochem* 2018; **119**: 3373-3383.
- [6] BOWTELL DD, BOHM S, AHMED AA, ASPURIA PJ, BAST JR RC, BERAL V, BEREK JS, BIRRER MJ, BLAGDEN S, BOOKMAN MA, BRENTON JD, CHIAPPINELLI KB, MARTINS FC, COUKOS G, DRAPKIN R, EDMONDSON R, FOTOPOULOU C, GABRA H, GALON J, GOURLEY C, HEONG V, HUNTSMAN DG, IWANICKI M, KARLAN BY, KAYE A, LENGUEL E, LEVINEDA, LU KH, MCNEISH IA, MENON U, NAROD SA, NELSON BH, NEPHEW KP, PHAROAH P, POWELL DJ, RAMOS P, ROMERO IL, SCOTT CL, SOOD AK, STRONACH EA, BALKWILL FR. Rethinking ovarian cancer II: reducing mortality from high-grade serous ovarian cancer. *Nat Rev Cancer* 2015; **15**: 668-679.
- [7] BROWN MD, GILMORE PE, HART CA, SAMUEL JD, RAMANI VA, GEORGE NJ, CLARKE NW. Characterization of benign and malignant prostate epithelial Hoechst 33342 side populations. *Prostate* 2007; **15**: 1384-1396.
- [8] BURGOS- OJEDA D, RUEDA BR, BUCKANOVICH RJ. Ovarian cancer stem cell markers: prognostic and therapeutic implications. *Cancer Lett* 2012; **1**: 1-7.
- [9] CIOFFI M, D'ALTERIO C, CAMERLINGO R, TIRINO V, CONSALES C, RICCIO A, IERANÒ C, CECERE SC, LOSITO NS, GREGGI S, PIGNATA S, PIROZZI G, SCALA S. Identification of a distinct population of CD133(+)/CXCR4(+) cancer stem cells in ovarian cancer. *Sci Rep* 2015; **28**: 10357.
- [10] CLARK DW, PALLE K. Aldehyde dehydrogenases in cancer stem cells: potential as therapeutic targets. *Ann Transl Med* 2016; **24**: 518.
- [11] CLEVERS H. The cancer stem cell: premises, promises and challenges. *Nat Med* 2011; **17**: 313-319.
- [12] CORBEIL D, RÖPER K, WEIGMANN A, HUTTNER WB. AC133 hematopoietic stem cell antigen: human homologue of mouse kidney prominin or distinct member of a novel protein family? *Blood* 1998; **7**: 2625-2626.
- [13] CROKER AK, ALLAN AL. Inhibition of aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity reduces chemotherapy and radiation resistance of stem-like ALDHhiCD44+ human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2012; **133**: 75-87.
- [14] CURLEY MD, THERRIEN VA, CUMMINGS CL, SERGENT PA, KOULOURIS CR, FRIEL AM, ROBERTS DJ, SEIDEN MV, SCADDEN DT, RUEDA BR, FOSTER R. CD133 expression defines a tumor initiating cell population in primary human ovarian cancer. *Stem Cells* 2009; **12**: 2875-2883.
- [15] DENG S, YANG X, LASSUS H, LIANG S, KAUR S, YE Q, LI C, WANG LP, ROBY KF, ORSULIC S, CONNOLLY DC, ZHANG Y, MONTONE K, BÜTZOW R, COUKOS G, ZHANG L. Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS One* 2010; **4**: e10277.
- [16] DYALL S, GAYTHER SA, DAFOU D. Cancer stem cells and epithelial ovarian cancer. *J Oncol* 2010; **2010**: 105269.
- [17] DYLLA SJ, BEVIGLIA L, PARK IK, CHARTIER C, RAVAL J, NGAN L, PICKELL K, AGUILAR J, LAZETIC S, SMITH-BERDAN S, CLARKE MF, HOEY T, LEWICKI J, GURNEY AL. Colorectal cancer stem cells are enriched in xenogeneic tumors following chemotherapy. *PLoS One* 2008; **6**: e2428.
- [18] FERRANDINA G, BONANNO G, PIERELLI L, PERILLO A, PROCOLI A, MARIOTTI A, CORALLO M, MARTINELLI E, RUTELLA S, PAGLIA A, ZANNONI G, MANCUSO S, SCAMBIA G. Expression of CD133-1 and CD133-2 in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2008; **18**: 506-514.
- [19] GARSON K, VANDERHYDEN BC. Epithelial ovarian cancer stem cells: underlying complexity of a simple paradigm. *Reproduction* 2015 Feb; **149**(2): R59-70.
- [20] GLUMAC PM, LEBEAU AM: The role of CD133 in cancer: a concise review. *Clin Transl Med* 2018; **1**: 18.

- [21] GOU S, LIU T, WANG C, YIN T, LI K, YANG M, ZHOU J. Establishment of clonal colony-forming assay for propagation of pancreatic cancer cells with stem cell properties. *Pancreas* 2007; **34**: 429-35.
- [22] GREIJER AE, VAN DER GROEP P, KEMMING D, SHVARTS A, SEMENZA GL, MEIJER GA, VAN DE WIEL MA, BELIEN JAM, VAN DIEST PJ, VAN DER WALL E. Up-regulation of gene expression by hypoxia is mediated predominantly by hypoxia-inducible factor I (HIF-1) *The J of Pathol* 2005; **206**: 291-304.
- [23] HESSMAN CJ, BUBBERS EJ, BILLINGSLEY KG, HERZIG DO, WONG MH. Loss of expression of the cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 correlates with advanced-stage colorectal cancer. *Am J Surg* 2012; **203**: 649-653.
- [24] HUANG R, LI X, HOLM R, TROPE CG, NESLAND JM, SUO Z. The expression of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) in ovarian carcinomas and its clinicopathological associations: a retrospective study. *BMC Cancer* 2015; **15**: 502.
- [25] JANUCHOWSKI R, WOJTOWICZ K, STERZYŃSKA K, SOSIŃSKA P, ANDRZEJEWSKA M, ZAWIERUCHA P, NOWICKI M, ZABEL M. Inhibition of ALDH1A1 activity decreases expression of drug transporters and reduces chemotherapy resistance in ovarian cancer cell lines. *Int J Biochem Cell Biol* 2016; **78**: 248-259.
- [26] KAHLERT C, BERGMANN F, BECK J, WELSCH T, MOGLER C, HERPEL E, DUTTA S, NIEMIETZ T, KOCH M, WEITZ J. Low expression of aldehyde dehydrogenase 1A1 (ALDH1A1) is a prognostic marker for poor survival in pancreatic cancer. *BMC Cancer*. 2011; **11**: 275.
- [27] KRESO A, DICK J; Evolution of the Cancer Stem Cell model. *Cell Stem Cell* 2014; **14**: 275-291.
- [28] KURODA T, HIROHASHI Y, TORIGOE T, YASUDA K, TAKAHASHI A, ASANUMA H, MORITA R, MARIYA T, ASANO T, MIZUUCHI M, SAITO T, SATO N. ALDH1-high ovarian cancer stem-like cells can be isolated from serous and clear cell adenocarcinoma cells, and ALDH1 high expression is associated with poor prognosis. *PLoS One* 2013; **6**: e65158.
- [29] KYRGIU M, SALANTI G, PAVLIDIS N, PARASKEVAIDIS E, IOANNIDIS JPA. Survival benefits with diverse chemotherapy regimens for ovarian cancer: meta-analysis of multiple treatments. *J Natl Cancer Inst* 2006; **22**: 1655-1663.
- [30] LANDEN CN JR, GOODMAN B, KATRE AA, STEG AD, NICK AM, STONE RL, MILLER LD, MEJIA PV, JENNINGS NB, GERSHENSON DM, BAST RC JR, COLEMAN RL, LOPEZ-BERESTEIN G, SOOD AK. Targeting aldehyde dehydrogenase cancer stem cells in ovarian cancer. *Mol Cancer Ther* 2010; **12**: 3186-3199.
- [31] LARA PC, LLORET M, CLAVO B, APOLINARIO RM, HENRIQUEZ-HERNANDEZ LA, BORDON E, FONTES F, REY A. Severe hypoxia induces chemo-resistance in clinical cervical tumors through MVP over-expression. *Radiation Oncology* 2009; **4**: 29.
- [32] LESLEY J., HYMAN R., KINCADE P. W. CD44 and its interaction with extracellular matrix. *Adv Immunol* 1993; **54**: 271-335.
- [33] LIN J, DING D. The prognostic role of the cancer stem cell marker CD44 in ovarian cancer: a meta-analysis. *Cancer Cell Int* 2017; **17**: 8.
- [34] LIU CL, CHEN YJ, FAN MH, LIAO YJ, TSUI LM. Characteristics of CD133-Sustained Chemoresistant Cancer Stem-Like Cells in Human Ovarian Carcinoma. *Int J Mol Sci* 2020; **18**: 6467.
- [35] MA I, ALLAN AL. The role of human aldehyde dehydrogenase in normal and cancer stem cells. *Stem Cell Rev Rep* 2011; **2**: 292-306.
- [36] MAEDA S, SHINCHI H, KURAHARA H, MATAKI Y, MAEMURA K, SATO M, NATSUGOE S, AIKOU T, TAKAO S. CD133 expression is correlated with lymph node metastasis and vascular endothelial growth factor-C expression in pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2008; **8**: 1389-1397.
- [37] MEACHAM CE, MORRISON SJ. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature* 2013; **501**: 328-337.
- [38] MENG E, LONG B, SULLIVAN P, MCCLELLAN S, FINAN MA, REED E, SHEVDE L, ROC-CONI RP. CD44+/CD24- ovarian cancer cells demonstrate cancer stem cell properties and correlate to survival. *Clin Exp Metastasis* 2012; **29**: 939-948.

- [39] MIRAGLIA S, GODFREY W, YIN AH, ATKINS K, WARNKE R, HOLDEN JT, BRAY RA, WALLER EK, BUCK DW. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood* 1997; **12**: 5013-5021.
- [40] MIZRAK D, BRITTAN M, ALISON MR. CD133: molecule of the moment. *J Pathol* 2008; **1**: 3-9.
- [41] MOITRA K, LOU H, DEAN M. Multidrug efflux pumps and cancer stem cells: insights into multidrug resistance and therapeutic development. *Clin Pharmacol Ther* 2011; **89**: 491-502.
- [42] MOR G, YIN G, CHEFETZ I, YANG Y, ALVERO A. Ovarian cancer stem cells and inflammation. *Cancer Biol Ther* 2011; **11**: 708-713.
- [43] OHI Y, UMEKITA Y, YOSHIOKA T, SOUDA M, RAI Y, SAGARA Y, SAGARA Y, SAGARA Y, TANIMOTO A. Aldehyde dehydrogenase 1 expression predicts poor prognosis in triple-negative breast cancer. *Histopathology* 2011; **4**: 776-80.
- [44] PARTE S.C., BATRA SK, KAKAR SS. Characterization of stem cell and cancer stem cell populations in ovary and ovarian tumors. *J Ovarian Res* 2018; **1**: 69.
- [45] PASQUIER J, RAFII A.: Role of the Microenvironment in Ovarian Cancer Stem Cell Maintenance *Biomed Res Int* 2013; **2013**.
- [46] RAHMAN M, DELEYROLLE L, VEDAM-MAI V, AZARI H, ABD-EL-BARR M, REYNOLDS BA. 2011. The cancer stem cell hypothesis: failures and pitfalls. *Neurosurgery* **68**: 531-545.
- [47] RICCI F, GUFFANTI F AND DAMIA G. Ovarian Cancer Recurrence: Role of Ovarian Stem Cells and Epithelial-to-Mesenchymal Transition. *J Cancer Sci Ther* 2014; **6**: 8.
- [48] RICCI-VITIANI L, LOMBARDI DG, PILOZZI E, BIFFONI M, TODARO M, PESCHLE C, DE MARIA R. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007; **7123**: 111-115.
- [49] ROY M., CONNOR J, AL.-NIAIMI A, ROSE SL, MAHAIAN A. Aldehyde dehydrogenase 1A1 (ALDH1A1) expression by immunohistochemistry is associated with chemo-refractoriness in patients with high-grade ovarian serous carcinoma. *Hum Pathol* 2018; **73**: 1-6.
- [50] RUSCITO I, CACSIRE CASTILLO-TONG D, VERGOTE I, IGNAT I, STANSKE M, VANDERSTICHELE A, GANAPATHI RN, GLAJZER J, KULBE H, TRILLSCH F, MUSTEA A, KREUZINGER C, BENEDETTI PANICI P, GOURLEY C, GABRA H, KESSLER M, SEHOULI J, DARB-ESFAHANI S, BRAICU EI. Exploring the clonal evolution of CD133/aldehyde-dehydrogenase-1 (ALDH1)-positive cancer stem-like cells from primary to recurrent high-grade serous ovarian cancer (HGSOC). A study of the Ovarian Cancer Therapy-Innovative Models Prolong Survival (OCTIPS) Consortium. *Eur J Cancer* 2017; **79**: 214-225.
- [51] RUSCITO I, DARB-ESFAHANI S, KULBE H, BELLATI F, ZIZZARI IG, RAHIMI KOSHKAKI H, NAPOLETANO C, CASERTA D, RUGHETTI A, KESSLER M, SEHOULI J, NUTI M, BRAICU EI. The prognostic impact of cancer stem-like cell biomarker aldehyde dehydrogenase-1 (ALDH1) in ovarian cancer: A meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2018; **1**: 151-157.
- [52] SILVA IA, BAI S, MCLEAN K, YANG K, GRIFFITH K, THOMAS D, GINESTIER C, JOHNSTON C, KUECK A, REYNOLDS RK, WICHA MS, BUCKANOVICH RJ. Aldehyde dehydrogenase in combination with CD133 defines angiogenic ovarian cancer stem cells that portend poor patient survival. *Cancer Res* 2011; **11**: 3991-4001.
- [53] SINGH SK, CLARKE ID, TERASAKI M, BONN VE, HAWKINS C, SQUIRE J, DIRKS PB. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003; **18**: 5821-5828.
- [54] SLADEK NE. Human aldehyde dehydrogenases: potential pathological, pharmacological, and toxicological impact. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; **17**: 7-23.
- [55] SONG W, LI H, TAO K, LI R, SONG Z, ZHAO Q, ZHANG F, DOU K. Expression and clinical significance of the stem cell marker CD133 in hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Pract* 2008; **8**: 1212-1218.
- [56] STEMBERGER-PAPIĆ S, VRDOLJAK-MOZETIC D, OSTOJIĆ DV, RUBESA-MIHALJEVIĆ R, KRIGTOFIĆ I, BRNCIĆ-FISHER A, KRAGEVIĆ M, EMINOVIĆ S. Expression of CD133 and CD117 in 64 Serous Ovarian Cancer Cases. *Coll Antropol* 2015; **3**: 745-753.

- [57] STEG AD, BEVIS KS, KATRE AA, ZIEBARTH A, DOBBIN ZC, ALVAREZ RD, ZHANG K, CONNER M, LANDEN CN. Stem cell pathways contribute to clinical chemoresistance in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2012; **3**: 869-881.
- [58] STERZYŃSKA K, KLEJEWSKI A, WOJTOWICZ K, ŚWIERCZEWSKA M, NOWACKA M, KAŻMIERCZAK D, ANDRZEJEWSKA M, RUSEK D, BRAŻERT M, BRAŻERT J, NOWICKI M, JANUCHOWSKI R. Mutual Expression of ALDH1A1, LOX, and Collagens in Ovarian Cancer Cell Lines as Combined CSCs- and ECM-Related Models of Drug Resistance Development. *Int J Mol Sci* 2018; **20**: 54.
- [59] SUGIHARA E, SAYA H. Complexity of cancer stem cells. *Int J Cancer* 2013; **6**: 1249-1259.
- [60] TOMITA H, TANAKA K, TANAKA T, HARA A. Aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cancer. *Oncotarget* 2016; **10**: 11018-11032.
- [61] THIGPEN T. First-line therapy for ovarian carcinoma: what's next? *Cancer Invest* 2004; **22**: 21-28
- [62] TSIBULAK I, ZEIMET AG, MARTH C. Hopes and failures in front-line ovarian cancer therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2019; **143**: 14-19.
- [63] TYSNES BB. Tumor-initiating and -propagating cells: cells that we would like to identify and control. *Neoplasia* 2010; **7**: 506-515
- [64] WANG YC, YO YT, LEE HY, LIAO YP, CHAO TK, SU PH, LAI HC. ALDH1-bright epithelial ovarian cancer cells are associated with CD44 expression, drug resistance, and poor clinical outcome. *Am J Pathol* **3**: 1159-1169.
- [65] WANG Y, SHAO F, CHEN L. ALDH1A2 suppresses epithelial ovarian cancer cell proliferation and migration by downregulating STAT3. *Onco Targets Ther* 2018; **11**: 599-608.
- [66] WEIGMANN A, CORBEIL D, HELLWIG A, HUTTNER WB. Prominin, a novel microvilli-specific polytopic membrane protein of the apical surface of epithelial cells, is targeted to plasmalemmal protrusions of non-epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; **23**: 12425-12430.
- [67] ZEPERNICK F, AHMADI R, CAMPOS B, DICTUS C, HELMKE BM, BECKER N, LICHTER P, UNTERBERG A, RADLWIMMER B, HEROLD-MENDE CC. Stem cell marker CD133 affects clinical outcome in glioma patients. *Clin Cancer Res* 2008; **14**: 123-129.
- [68] ZHANG S, BALCH C, CHAN MW, LAI HC, MATEI D, SCHILDER JM, YAN PS, HUANG TH, NEPHEW KP. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res* 2008; **11**: 4311-4320.
- [69] ZHANG J, GUO X, CHANG DY, ROSEN DG, MERCADO-URIBE I, LIU J. CD133 expression associated with poor prognosis in ovarian cancer. *Mod Pathol* 2012; **3**: 456-464.
- [70] ZHOU C, SUN B. The prognostic role of the cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 in head and neck squamous cell carcinomas: a meta-analysis. *Oral Oncol* 2014; **12**: 1144-1148.
- [71] ZHOU J, DU Y, LU Y, LUAN B, XU C, YU Y, ZHAO H. CD44 Expression Predicts Prognosis of Ovarian Cancer Patients Through Promoting Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) by Regulating Snail, ZEB1, and Caveolin-1. *Front Oncol* 2019; **9**: 802.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 31.11.2020

Przyjęto: 15.12.2020

Natalia Iżycka

Klinika Onkologii Ginekologicznej

Katedra Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

e-mail: natalia.izycka@gmail.com