

Received: 24.08.2006

Accepted: 08.09.2006

Published: 30.09.2006

Rola komórek macierzystych w etiopatogenezie nowotworów ośrodkowego układu nerwowego

Role of stem cells in the pathogenesis of CNS tumors

Zakład Patologii Molekularnej i Neuropatologii Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź, tel.: 042 675 76 30, e-mail: piottrieske@yahoo.com

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

W artykule przedstawiono aktualne poglądy na temat udziału komórek macierzystych w nowotworzeniu, ze szczególnym uwzględnieniem nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. Po pierwsze przytoczono niektóre argumenty na rzecz tezy, iż komórkowym celem dla karcynogenów na pierwszym etapie nowotworzenia są prawidłowe komórki macierzyste lub komórki progenitorowe. Jednocześnie omówiono istotne problemy, z jakimi wiążą się próby identyfikacji komórkowego źródła nowotworów. Jednym z nich jest problem odróżnienia komórek macierzystych od komórek zróżnicowanych. Po drugie zaprezentowano dane pozwalające stwierdzić, iż w obrębie tkanki nowotworowej bytują komórki macierzyste nowotworu – komórki umożliwiające regenerację tej patologicznej tkanki. W kontekście rozważań dotyczących roli komórek macierzystych w etiopatogenezie nowotworów przedstawiono nową teorię na temat fizjologicznej i patologicznej roli pełnionej przez prawidłowe i uszkodzone białka, takie jak APC, SUFU, EGFR, c-MYC, P53. Omówiono także udział w nowotworzeniu, białek kontrolujących modyfikację chromatyny jak np. białka Polycomb. Białka te odgrywają niezwykle istotną rolę w czasie różnicowania. W artykule omówiono także pierwsze doświadczenie własne związane z udziałem komórek macierzystych w etiopatogenezie nowotworów OUN. Wreszcie przedstawione zostały przesłanki dające nadzieję na wykorzystanie wiedzy o nowotworowych komórkach macierzystych do projektowania nowych rodzajów terapii przeciwnowotworowej. Opracowywanie tych terapii może być oparte na poszukiwaniu chemioterapeutyków selektywnie eliminujących nowotworowe komórki macierzyste. Możliwe jest również wykorzystanie prawidłowych, ale zmodyfikowanych genetycznie komórek macierzystych do wysłedzenia nowotworowych komórek macierzystych i ich eliminacji.

SŁOWA KLUCZOWE: nowotworowe komórki macierzyste, APC, P53, SHH, WNT

Summary

The paper presents current views concerning the role of stem cells in neoplasia, with particular emphasis of CNS tumors. First, some arguments are presented supporting the thesis that at the first stage of neoplasia, the cellular target for carcinogens are normal stem cells or progenitor cells. Also, discussed are important problems associated with attempts at identification of cellular sources of neoplasms. One of these is the difficulty encountered with distinguishing stem cells and non-differentiated cells. Second, data are presented allowing the conclusion that within neoplastic tissue exist neoplastic stem cells – cells enabling regeneration of this pathological tissue. In the context of discussion concerning the role of stem cells in the pathogenesis of neoplasms, a new theory about physiologic and pathologic role of normal and damaged proteins, e.g. APC, SUFU, EGFR, c-MYC, P53 is presented. Discussed is also the role of proteins controlling modification of chromatin, e.g. the Polycomb protein. These proteins are extremely important for the differentiation process. The paper presents also own preliminary experience with the role of stem cells in the pathogenesis of CNS tumors. Finally, presented are premises providing hope for application of knowledge concerning neoplastic stem cells in designing novel modalities of oncologic therapies. Development of such therapies may be based on the search for chemotherapeutic agents which would selectively eliminate neoplastic stem cells. It is also possible to use normal but genetically modified stem cells to detect neoplastic stem cells and to eliminate them.

KEY WORDS: tumor stem cells, APC, P53, SHH, WNT

NOWOTWORY MOGĄ WYWODZIĆ SIĘ Z SOMATYCZNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH

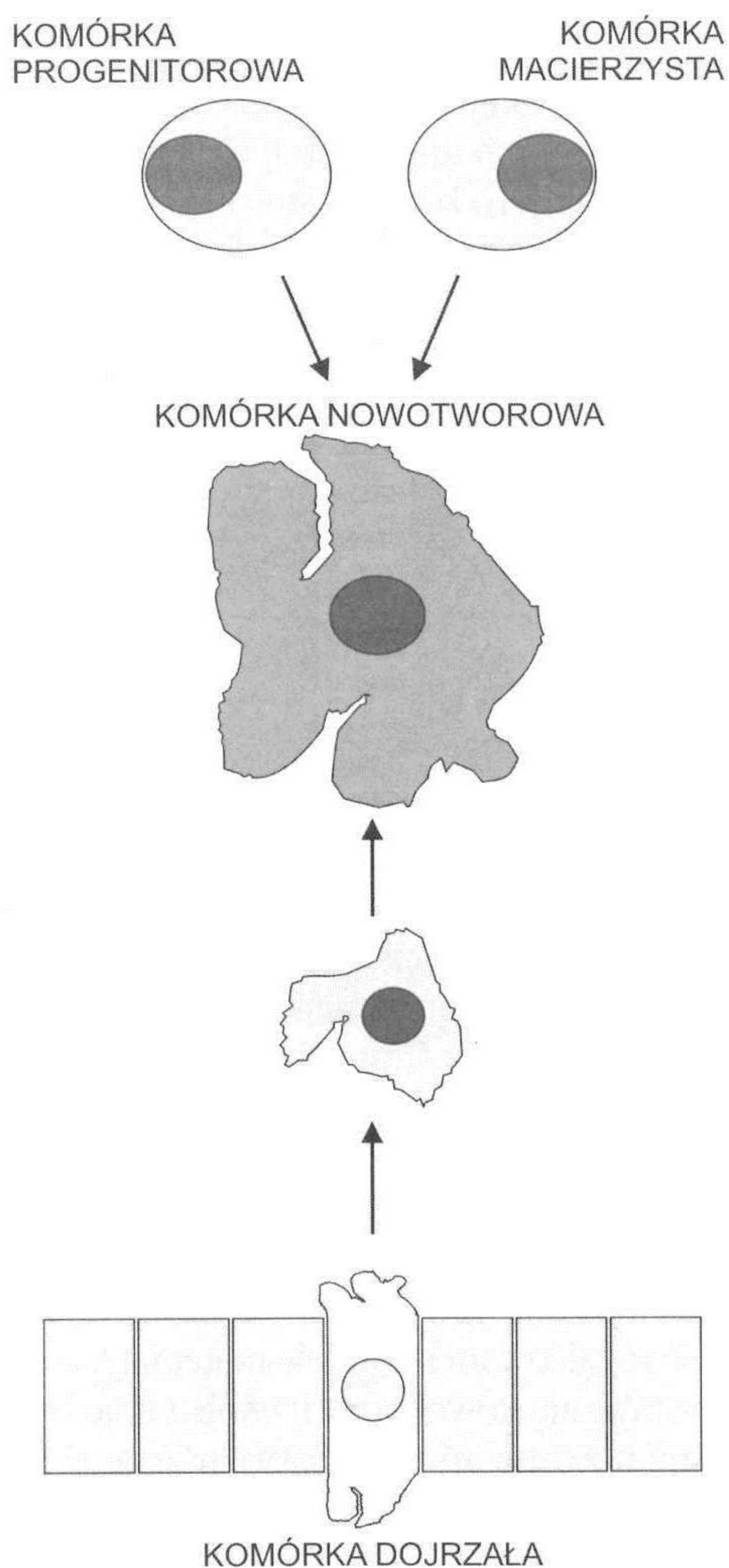
W ciągu ostatnich kilku lat wielu biologów sugerowało, że w wyniku działania karcynogenów somatyczne komórki macierzyste przeobrażają się w komórki nowotworowe⁽¹⁾. Już przed 150 laty Virchow, Cohnheim i Durante postulowali, że nowotwory wywodzą się z „embrionalnych pozostałości, które zagubiły się” w czasie rozwoju organizmu⁽²⁾. Później ideę tę zarzucono; pierwsi wrócili do niej hematolodzy, spekulując, że hematopoetyczne komórki pnia mogą być ekwiwalentem „embrionalnych pozostałości” opisywanych przez Virchowa⁽³⁾. Niestety, większość onkologów nie podzielała tego zdania. W czasie sympozium naukowego w Heidelbergu (International Conference on Stem Cells and Cancer, 2006) Weinberg, jeden z twórców teorii toru mutacyjnego stwierdził: „dziś trudno uwierzyć, że aż tyle lat zajęło nam dojście do wniosku, że komórki macierzyste mogą przeobrażać się w komórki nowotworowe”. Rzeczywiście, może to być zaskakujące w odniesieniu do raka jelita grubego czy raka skóry. Obecnie twierdzenie, że stosunkowo krótko żyjące enterocyty miałyby doczekać serii mutacji ich DNA, w wyniku których przeobrażą się z komórek prawidłowych w komórki nowotworowe, może się wydawać dość naiwne. Oczywiście, łatwiej zaakceptować taki scenariusz w odniesieniu do nieśmiertelnych komórek macierzystych ukrytych w obrębie kosmków jelitowych. Jednak w przypadku nowotworów ośrodkowego układu nerwowego (OUN) rozwijających się u osób dorosłych twierdzenie, że wywodzą się one z komórek dojrzałych, miało proste uzasadnienie. Powszechne było przekonanie, że w OUN dorosłych nie ma właściwie komórek macierzystych. Nie może więc dziwić, że to właśnie hematolodzy, a nie neuroonkolodzy dostarczyli pierwszych argumentów na rzecz tezy, iż komórki macierzyste lub komórki progenitorowe ulegają mutacji w czasie nowotworzenia. Dziś, kiedy już wiemy, że nawet u dorosłych występują nerwowe komórki macierzyste^(4,5), łatwiej dojść do wniosku, że mogą one być źródłem nowotworów mózgu. Obecnie niektórzy biolodzy są niemal pewni, że nowotwory wywodzą się z komórek macierzystych – przypuszczają nawet, że komórki te powstały po to, by w naszym organizmie zmniejszyć ilość komórek nieśmiertelnych, czyli komórek, które stanowią właściwy cel dla karcynogenów. Faktem jest, że w komórkach macierzystych podnosi się z wiekiem poziom takich białek, jak na przykład p16. Białko to hamuje przejście G1 S w czasie cyklu komórkowego. Uzyskane wyniki sugerują, że z wiekiem podziały komórek macierzystych stają się coraz trudniejsze, utrudniona może być więc także transformacja nowotworowa⁽⁶⁾. Z drugiej strony wielu naukowców zdaje się powątpiewać, iż możliwe jest bezsprzeczne wykazanie, że nowotwory wywodzą się z komórek macierzystych. Jak już wcześniej wspomnia-

no, dzięki przesłankom takim jak nieśmiertelność komórek macierzystych powyższy scenariusz wydaje się racjonalny, mimo to trudno go testować w warunkach *in vivo*. W przypadku glejaków testowano tę hipotezę z powodzeniem *in vitro*. Holland i wsp. wykazali, że zmutowane nerwowe komórki macierzyste NSC (ang. *neural stem cells*) przeobrażają się w glejaki wielopostaciowe⁽⁷⁾. Wiadomo ponadto, że komórki nowotworowe są zdolne do samoodnowy, wykorzystują te same szlaki transdukcji sygnałów co komórki macierzyste⁽⁸⁾. W niniejszym artykule zostaną omówione podobieństwa między komórkami macierzystymi i komórkami nowotworowymi, przy czym już teraz musimy zauważyć, że wszystkie te analogie nie dają podstaw do obalenia teorii, według której na początku nowotworzenia dochodzi do odróżnicowania (ang. *dedifferentiation*) komórki dojrzałej – odróżnicowania będącego konsekwencją dokonania się zaledwie pierwszego etapu z tzw. toru mutacyjnego. Można sobie wyobrazić, iż już ten pierwszy etap nada zmutowanej komórce nieśmiertelność. Z drugiej strony w świetle wiedzy o zmianach powodowanych przez pojedyncze mutacje i złożoności działania komórek wydawać się może mało prawdopodobne, żeby jedna mutacja pociągała za sobą odróżnicowanie dojrzałej komórki, nadając jej fenotyp komórki nieśmiertelnej. Choć to mało prawdopodobne, nie możemy być pewni, że taki proces nie zachodzi. Trzeba wziąć pod uwagę, iż w ostatnim czasie pojawia się coraz więcej dowodów, że nawet prawidłowe (niezmutowane) komórki o pozornie bardzo ograniczonym potencjale różnicowania mogą ulegać transróżnicowaniu lub odróżnicowaniu (więcej informacji na ten temat w artykule „Rewolucja w biologii rozwojowej”). Możliwość ta bardzo komplikuje rozważania na temat komórkowego pochodzenia nowotworów. W obecnym numerze „Aktualności Neurologicznych” przedstawiamy również zmieniające się poglądy na temat nerwowych komórek macierzystych (zob. artykuł „Czy potrzebny jest nowy model neuropoezy?”). Wiemy obecnie, że niektóre komórki GFAP-pozytywne są nerwowymi komórkami macierzystymi⁽⁹⁾. Do niedawna GFAP uznawano za marker astrocytów, czyli komórek dojrzałych⁽¹⁰⁾. Już sama ta informacja powinna świadczyć o tym, jak trudno jest określić komórkowe pochodzenie nowotworów. Owszem, zgromadziliśmy wiele poszlak wskazujących na to, że to komórki macierzyste są źródłem nowotworów, nie zgromadziliśmy jednak niezbitych dowodów. Poza tym wciąż nie ma zgody co do tego, jaka komórka jest, a jaka nie jest komórką macierzystą.

NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZYSTE

Chociaż nie mamy dziś pewności, czy nowotwory wywodzą się z komórek macierzystych, nie ulega wątpliwości, że nowotwory posiadają takie komórki. Są to komórki zdolne do samoodnowy i umożliwiające regenerację pa-

tologicznej tkanki nowotworowej. Istnienie nowotworowych komórek macierzystych zostało po raz pierwszy udowodnione w odniesieniu do ostrej białaczki szpikowej. Bonnet i Dick użyli markerów powierzchniowych, aby odróżnić komórki białaczki o niskim od komórek o wysokim potencjale proliferacyjnym⁽³⁾. Zauważyli przy tej okazji, że tylko nieliczne komórki białaczkowe (mniej niż 1%) są w stanie dokonać odtworzenia nowotworu u myszy z defektem immunologicznym. W ostatnim okresie podobne obserwacje poczyniono w odniesieniu do komórek raka piersi i komórek anaplastycznych glejaków^(11,12). Jednak najbardziej spektakularny był chyba eksperyment dotyczący komórek rdzeniaka: wykorzystując je, zespół Currana stworzył embrion⁽¹³⁾. Jest to wynik doprawdy zaskakujący: dopiero co zaczęliśmy się utwierdzać w przekonaniu, że heterogenność komórkowa obserwowana w rdzeniakach jest konsekwencją możliwości różnicowania się genetycznie identycznych komórek



Rys. 1. Komórki nowotworowe mogą pochodzić ze zmutowanych komórek macierzystych, komórek progenitorowych lub dojrzałych komórek organizmu

rdzeniaka do komórek różniących się fenotypem, a nie heterogenności genetycznej (obecności populacji komórkowych prezentujących różne mutacje), a już pojawia się informacja o możliwości wykorzystania komórek rdzeniaka do tworzenia rozwijającego się embrionu⁽¹³⁾. Wprawdzie już dawno wykazano, iż komórki nowotworowe posiadają zdolność do prowadzenia spaczony organogenezy⁽¹⁴⁾, trudno było jednak przypuszczać, że mogą wziąć udział w procesie embriogenezy. Analizując wyniki eksperymentu, nie mogliśmy nie zadać sobie pytania: w jakiej mierze nasza ocena nowotworu jako chaotycznie działającego zbioru komórek była prawidłowa? Innymi słowy czy tkanka nowotworowa nie jest tworzona dzięki nowotworowym komórkom macierzystym w sposób bardziej „przemysłany”? Czy pojawianie się różniących się fenotypowo komórek jest nic nieznaczącym epifenomenem, czy też raczej konstruktywną odpowiedzią nowotworowych komórek macierzystych na zmiany zachodzące w środowisku? Czy nie jest tak, że różne komórki nowotworu powstające z nowotworowych komórek macierzystych pełnią różne funkcje? Jeżeli chodzi o nowotwory OUN, jak dotąd nie dostarczono spektakularnego dowodu, iż tak jest w istocie, niemniej badania nowotworów dających odległe przerzuty pozwalają wnioskować, że nowotworowe komórki macierzyste są „nasionami metastazy”, proliferującymi i różnicującymi się do komórek lepiej przystosowanych do funkcjonowania w nowym środowisku⁽¹⁵⁾. Wszystko wskazuje na to, że nowotworowe komórki macierzyste korzystają z tych samych sygnałów, aby dokonać metastazy, z których korzystają prawidłowe komórki macierzyste, aby trafić do miejsc wymagających regeneracji⁽¹⁵⁾. Dzięki tego typu obserwacjom powstają takie metafory, jak ta profesora Ratajczaka: „Nowotworowa komórka macierzysta to rycerz Jedi, który przeszedł na ciemną stronę mocy”⁽¹⁶⁾.

SZLAKI TRANSDUKCJI SYGNAŁÓW AKTYWNE W KOMÓRKACH MACIERZYSTYCH I KOMÓRKACH NOWOTWOROWYCH

Skoro komórki macierzyste i nowotworowe posiadają podobne cechy, należy się spodziewać, że wykorzystują też podobne mechanizmy regulacyjne. Rzeczywiście, szlaki transdukcji sygnałów kontrolujące samoodnowę, proliferację i różnicowanie komórek macierzystych są niezwykle aktywne w komórkach nowotworowych. W następstwie mutacji genu *APC* (ang. *adenomatous polyposis of the colon*) szlak WNT (ang. *wingless type*)* jest permanentnie aktywowany w wielu komórkach nowotworowych. W rdzeniakach wykrywano mutacje genów kodujących takie białka, jak APC, β -katenina czy AXIN (ang. *axis inhibitor*)⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. W komórkach rdzeniaków wyjątko-

* Nazwy genów nadano, opierając się na zaburzeniach genotypowych obserwowanych u much *Drosophila* z odpowiednimi uszkodzonymi genami.

wą aktywność wykazuje również szlak SHH (ang. *sonic hedgehog*)*. W nowotworach tych opisywano mutacje genów: *SUFU* (ang. *suppressor of fused*), *PTCH* (ang. *patched*)*, *SMO* (ang. *smoothened*)* – regulatorów tego szlaku⁽²⁰⁻²²⁾. Początkowo mutacjom tym przypisywano zupełnie inną rolę, mianowicie starano się udowodnić udział tych szlaków transdukcji sygnałów w proliferacji^(22,23). Ostatecznie w chwili obecnej uznajemy, że istotniejsza w kontekście nowotworzenia jest regulacja z ich wykorzystaniem procesów takich jak samoodnowa. Aktualnie w kontekście tym rozważa się także mutacje genu *PTEN* (ang. *phosphatase and tensin homolog*) – początkowo rolę *PTEN* jednoznacznie wiązano z proliferacją⁽²⁴⁾, dziś już nie jest to takie oczywiste^(25,26). Od dawna wiadomo, że EGF stanowi ważny czynnik regulujący różnicowanie neuralne⁽²⁷⁾. Aktywacja tego receptora blokuje różnicowanie astrocytarne i utrzymuje nerwowe komórki macierzyste w stanie multipotencjalności. Rearanżacje towarzyszące amplifikacjom *EGFR* są jedną z najczęstszych zmian genetycznych w glejakach wielopostaciowych⁽²⁸⁾.

REMODELOWANIE CHROMATYNY

Powszechnie wiadomo, że remodelowanie chromatyny jest niezwykle istotne w trakcie różnicowania komórek macierzystych. Białka z tzw. rodziny Polycomb odgrywają w tym procesie bardzo ważną rolę⁽²⁹⁾. Wśród komponentów białek Polycomb znajduje się białko Bmi-1, niezbędne w trakcie samoodnowy nerwowych komórek macierzystych^(30,31). Usunięcie Bmi-1 z organizmu myszy prowadzi do różnych wad rozwojowych, w tym wad OUN. Poziom Bmi-1 maleje w czasie neuropoezy^(32,33). Zmienioną ekspresję tego białka obserwowano w przypadku białaczek limfatycznych i raka jelita grubego^(34,35). W odniesieniu do nowotworów mózgu stwierdzono podwyższony poziom Bmi-1 w neurosferach pochodzących z nowotworów mózgu⁽³⁶⁾. Białko Bmi-1 bierze także udział w regulacji cyklu komórkowego⁽³⁷⁾.

P53, Rb, c-MYC A RÓŻNICOWANIE

Pomijając fakt, że geny kodujące białka znajdujące się na szlakach WNT (ang. *wingless type*), SHH określane są odpowiednio jako onkogeny i supresory, wyróżnić można oczywiście geny kodujące białka supresorowe lub onkogenne działające poza tymi szlakami. Supresory nowotworowe takie jak Rb (ang. *retinoblastoma*) czy P53 regulują proliferację komórek. Eliminacja P53 doprowadza do proliferacji komórek również wtedy, gdy występują mutacje genomu, które w prawidłowej komórce doprowadziłyby do apoptozy⁽³⁸⁾. Brak Rb kojarzony jest także ze zwiększoną aktywnością proliferacyjną komórki. Udział tych białek w różnicowaniu nie budzi jednak wątpliwości. Myszy z nieaktywnym genem Rb wykazują anomalie neuropoezy. U myszy tych obserwuje się na przykład ogniska neuropoezy w miejscach, w któ-

rych neuropoeza nie powinna się odbywać^(39,40). Również P53 bierze udział w różnicowaniu. Działanie kwasu retinowego, silnego regulatora różnicowania zależy od P53⁽⁴¹⁾. Ponadto P53 wiąże się z promotorem genu *Nanog*⁽⁴²⁾. Białko *Nanog* jest jednym z najistotniejszych regulatorów różnicowania⁽⁴³⁾. Obserwacje te pokazują, że mutacje P53 czy Rb, bardzo często występujące w glejakach, mogą wpływać nie tylko na proliferację i apoptozę, ale również na zdolność komórek nowotworowych do różnicowania.

Ponadto udowodniono w tym roku – ponad wszelką wątpliwość – udział onkogenego białka c-MYC w regulacji różnicowania. Nadekspresja tego białka była niezbędna, aby nadać fibroblastom pluripotencjalność⁽⁴⁴⁾.

DOŚWIADCZENIA WŁASNE

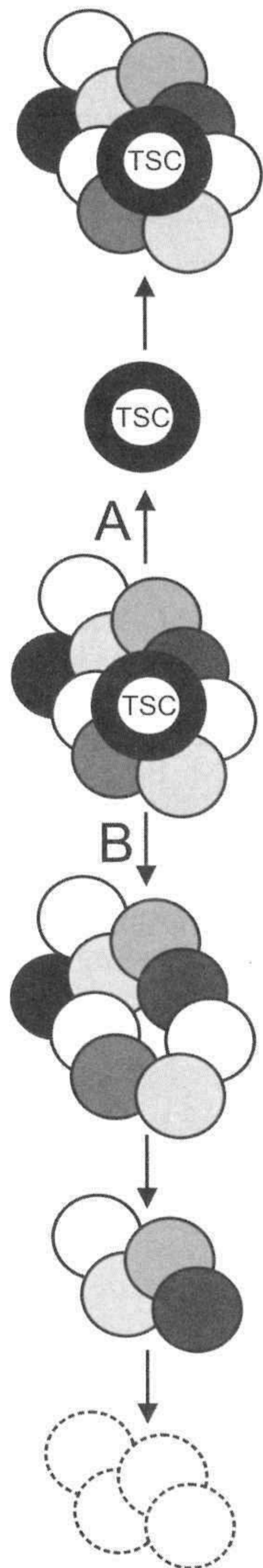
W opublikowanej przez nasz zespół pracy dokonaliśmy oceny ekspresji i zmian metylacyjnych genów rozpatrywanych jako supresory nowotworowe w rdzeniakach. Były to geny *HIC-1* (ang. *hypermethylated in cancer*) i *REN*. W dotychczasowych analizach tych genów, oceniając zmiany ekspresji, jako kontrolę stosowano niezmienną nowotworowo tkanki mózgu dorosłych osób. Ponieważ jednak uważa się, że rdzeniaki powstają z nerwowych komórek macierzystych, wykorzystaliśmy także komórki macierzyste, aby ustalić zmiany ekspresji i metylacji genów *HIC-1* i *REN* w tych nowotworach. W toku naszych analiz stwierdziliśmy, że to raczej *REN* działający na szlaku SHH, a nie *HIC-1*, jest zaangażowany w etiopatogenezę rdzeniaków. Zważywszy, że to komórki macierzyste, a nie komórki dojrzałe są celem dla karcynogenów, niezwykle istotny jest właściwy dobór kontroli⁽⁴⁵⁾.

Wątek komórek macierzystych pojawił się w jeszcze jednej naszej pracy odnoszącej się do nowotworów mózgu. Opisałiśmy przypadek osoby z zespołem Li-Fraumeni, u której wykryto jednocześnie mięsaka włóknisto-histiocytarne, oponiaka i glejaka anaplastycznego. W glejaku i mięsaku ujawniono obecność identycznej aberracji chromosomalnej. Jednocześnie zarówno glejak, jak i mięsak prezentowały odrębne swoiste mutacje – glejak amplifikację *EGFR*, a mięsak delecję fragmentu chromosomu 3. Wyniki te nasunęły podejrzenie, że glejak i mięsak wywodziły się z jednej komórki progenitorowej, przy czym musiałyby to być komórka o bardzo dużym potencjale różnicowania. Modele matematyczne opisujące powstawanie nowotworu u osób z dziedzicznymi chorobami nowotworowymi potwierdzają, iż taki scenariusz jest prawdopodobny⁽⁴⁶⁾.

ZNACZENIE TERAPEUTYCZNE ISTNIENIA NOWOTWOROWYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Fakt, że nowotwory posiadają swoje komórki macierzyste – komórki zdolne do odtworzenia nowotworu i do-

konania metastazy, ma szczególne znaczenie terapeutyczne. Ich eliminacja oznacza zniszczenie nowotworu, podobnie jak eliminacja komórek macierzystych szpiku oznacza aplazję szpiku. Niestety, pierwsze wyniki badań jednoznacznie wskazują, że nowotworowe komórki macierzyste są bardziej odporne na wiele stosowanych terapii przeciwnowotworowych. Komórki te posiadają na przykład więcej białek ABC (ang. *ATP-binding cassette*), pozwalających na usuwanie z ich wnętrza chemioterapeutyków⁽⁸⁾. Powinniśmy rozpoznać słabe strony tych komórek, aby je zniszczyć, a co za tym idzie unicestwić cały nowotwór (rys. 2). Dotychczasowe prace nad macierzystymi komórkami nowotworów mózgu pokazują, że mogą one posiadać specyficzne markery powierzch-



Rys. 2. Obecnie stosowane terapie przeciwnowotworowe (A) eliminują wiele komórek nowotworowych, ale najwyraźniej nie nowotworowe komórki macierzyste. Nowe terapie (B) dzięki eliminacji nowotworowych komórek macierzystych mogą doprowadzić do „aplazji” całego nowotworu. TSC – ang. tumor stem cell – nowotworowa komórka macierzysta

niowe, np. CD133⁽⁴⁷⁾. Białka takie można wybrać na cele dla nowych chemioterapeutyków (rys. 2). Terapia stosowana w walce z guzami mózgu może też polegać na transplatacji prawidłowych komórek macierzystych w miejsce, gdzie znajduje się nowotwór. Postawiono hipotezę, że odpowiednio zmodyfikowane prawidłowe komórki macierzyste mogą wyszukiwać (ang. *tracking*) nowotworowe komórki macierzyste i doprowadzać do ich eliminacji. Jeśli hipoteza ta zostanie potwierdzona, będzie to istotnie przełom w terapii guzów mózgu^(48,49).

PIŚMIENNICTWO:

1. Reya T, Morrison S.J., Clarke M.F., Weissman I.L.: Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105-111.
2. Virchow R.: Editorial. *Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.* 1855; 8: 23-54.
3. Bonnet D., Dick J.E.: Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.* 1997; 3: 730-737.
4. Gage F.H.: Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287: 1433-1438.
5. Palmer T.D., Schwartz P.H., Taupin P. i wsp.: Cell culture. Progenitor cells from human brain after death. *Nature* 2001; 411: 42-43.
6. Kim W.Y., Sharpless N.E.: The regulation of *INK4/ARF* in cancer and aging. *Cell* 2006; 127: 265-275.
7. Holland E.C., Celestino J., Dai C. i wsp.: Combined activation of Ras and Akt in neural progenitors induces glioblastoma formation in mice. *Nat. Genet.* 2000; 25: 55-57.
8. Pardo R., Clarke M.F., Morrison S.J.: Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2003; 3: 895-902.
9. Doetsch F., Caille I., Lim D.A. i wsp.: Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 2001; 97: 703-716.
10. Laywell E.D., Rakic P., Kukekov V.G. i wsp.: Identification of a multipotent astrocytic stem cell in the immature and adult mouse brain. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2000; 97: 13883-13888.
11. Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A. i wsp.: Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2003; 100: 3983-3988.
12. Singh S.K., Clarke I.D., Terasaki M. i wsp.: Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res.* 2003; 63: 5821-5828.
13. Li L., Connelly M.C., Wetmore C. i wsp.: Mouse embryos cloned from brain tumors. *Cancer Res.* 2003; 63: 2733-2736.
14. Sell S., Pierce G.B.: Maturation arrest of stem cell differentiation is a common pathway for the cellular origin of teratocarcinomas and epithelial cancers. *Lab. Invest.* 1994; 70: 6-22.
15. Kucia M., Reza R., Miekus K. i wsp.: Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis. *Stem Cells* 2005; 23: 879-894.
16. Ratajczak M.Z.: Cancer stem cells – normal stem cells “Jedi” that went over to the “dark side”. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2005; 43: 175-181.
17. Baeza N., Masuoka J., Kleihues P., Ohgaki H.: *AXIN1* mutations but not deletions in cerebellar medulloblastomas. *Oncogene* 2003; 22: 632-636.

18. Gilbertson R.J.: Medulloblastoma: signalling a change in treatment. *Lancet Oncol.* 2004; 5: 209-218.
19. Koch A., Waha A., Tonn J.C. i wsp.: Somatic mutations of WNT/wingless signaling pathway components in primitive neuroectodermal tumors. *Int. J. Cancer* 2001; 93: 445-449.
20. Huang H., Mahler-Araujo B.M., Sankila A. i wsp.: APC mutations in sporadic medulloblastomas. *Am. J. Pathol.* 2000; 156: 433-437.
21. Taylor M.D., Liu L., Raffel C. i wsp.: Mutations in *SUFU* predispose to medulloblastoma. *Nat. Genet.* 2002; 31: 306-310.
22. Dong J., Gailani M.R., Pomeroy S.L. i wsp.: Identification of *PATCHED* mutations in medulloblastomas by direct sequencing. *Hum. Mutat.* 2000; 16: 89-90.
23. Zurawel R.H., Allen C., Chiappa S. i wsp.: Analysis of *PTCH/SMO/SHH* pathway genes in medulloblastoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2000; 27: 44-51.
24. Fraser M.M., Zhu X., Kwon C.H. i wsp.: Pten loss causes hypertrophy and increased proliferation of astrocytes *in vivo*. *Cancer Res.* 2004; 64: 7773-7779.
25. Rossi D.J., Weissman I.L.: *Pten*, tumorigenesis, and stem cell self-renewal. *Cell* 2006; 125: 229-231.
26. Wang S., Garcia A.J., Wu M. i wsp.: *Pten* deletion leads to the expansion of a prostatic stem/progenitor cell subpopulation and tumor initiation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2006; 103: 1480-1485.
27. Sun Y., Goderie S.K., Temple S.: Asymmetric distribution of EGFR receptor during mitosis generates diverse CNS progenitor cells. *Neuron* 2005; 45: 873-886.
28. Sardi S.P., Murtie J., Koirala S. i wsp.: Presenilin-dependent ErbB4 nuclear signaling regulates the timing of astrogenesis in the developing brain. *Cell* 2006; 127: 185-197.
29. Valk-Lingbeek M.E., Bruggeman S.W., van Lohuizen M.: Stem cells and cancer; the polycomb connection. *Cell* 2004; 118: 409-418.
30. Hemmati H.D., Nakano I., Lazareff J.A. i wsp.: Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2003; 100: 15178-15183.
31. Leung C., Lingbeek M., Shakhova O. i wsp.: *Bmi-1* is essential for cerebellar development and is overexpressed in human medulloblastomas. *Nature* 2004; 428: 337-341.
32. Molofsky A.V., He S., Bydon M. i wsp.: *Bmi-1* promotes neural stem cell self-renewal and neural development but not mouse growth and survival by repressing the p16^{Ink4a} and p19^{Arf} senescence pathways. *Genes Dev.* 2005; 19: 1432-1437.
33. Molofsky A.V., Pardal R., Iwashita T. i wsp.: *Bmi-1* dependence distinguishes neural stem cell self-renewal from progenitor proliferation. *Nature* 2003; 425: 962-967.
34. Kim J.H., Yoon S.Y., Jeong S.H. i wsp.: Overexpression of *Bmi-1* oncoprotein correlates with axillary lymph node metastases in invasive ductal breast cancer. *Breast* 2004; 13: 383-388.
35. Kim J.H., Yoon S.Y., Kim C.N. i wsp.: The *Bmi-1* oncoprotein is overexpressed in human colorectal cancer and correlates with the reduced p16^{Ink4a}/p14^{ARF} proteins. *Cancer Lett.* 2004; 203: 217-224.
36. Galderisi U., Cipollaro M., Giordano A.: Stem cells and brain cancer. *Cell Death Differ.* 2006; 13: 5-11.
37. Guney I., Wu S., Sedivy J.M.: Reduced c-Myc signaling triggers telomere-independent senescence by regulating *Bmi-1* and p16^{Ink4a}. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2006; 103: 3645-3650.
38. Hollstein M., Sidransky D., Vogelstein B., Harris C.C.: p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
39. Ferguson K.L., McClellan K.A., Vanderluit J.L. i wsp.: A cell-autonomous requirement for the cell cycle regulatory protein, Rb, in neuronal migration. *EMBO J.* 2005; 24: 4381-4391.
40. Galderisi U., Cipollaro M., Giordano A.: The retinoblastoma gene is involved in multiple aspects of stem cell biology. *Oncogene* 2006; 25: 5250-5256.
41. Sarkar S.A., Sharma R.P.: All-trans-retinoic acid-mediated modulation of p53 during neural differentiation in murine embryonic stem cells. *Cell Biol. Toxicol.* 2002; 18: 243-257.
42. Lin T., Chao C., Saito S. i wsp.: p53 induces differentiation of mouse embryonic stem cells by suppressing *Nanog* expression. *Nat. Cell Biol.* 2005; 7: 165-171.
43. Silva J., Chambers I., Pollard S., Smith A.: *Nanog* promotes transfer of pluripotency after cell fusion. *Nature* 2006; 441: 997-1001.
44. Takahashi K., Yamanaka S.: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-676.
45. Zawlik I., Zakrzewska M., Witusik M. i wsp.: *KCTD11* expression in medulloblastoma is lower than in adult cerebellum and higher than in neural stem cells. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2006; 170: 24-28.
46. Rieske P., Zakrzewska M., Biernat W. i wsp.: Atypical molecular background of glioblastoma and meningioma developed in a patient with Li-Fraumeni syndrome. *J. Neurooncol.* 2005; 71: 27-30.
47. Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D. i wsp.: Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004; 432: 396-401.
48. Tang Y., Shah K., Messerli S.M. i wsp.: *In vivo* tracking of neural progenitor cell migration to glioblastomas. *Hum. Gene Ther.* 2003; 14: 1247-1254.
49. Noble M.: Can neural stem cells be used to track down and destroy migratory brain tumor cells while also providing a means of repairing tumor-associated damage? *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2000; 97: 12393-12395.