

Tumorőssejtek szerepe a melanoma progressziójában és heterogenitásában

Széky Balázs¹ ■ Silló Pálma dr.² ■ Fábíán Melinda dr.² ■ Mayer Balázs dr.²
Kárpáti Sarolta dr.² ■ Németh Krisztián dr.²

¹Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionikai Kar, Budapest

²Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika, Budapest

A szolid és hematológiai tumorok legtöbbszörében mára olyan sejtpopulációkat azonosítottak, amelyek a daganatok kis százalékát alkotják, mégis kiemelkedő szerepet töltenek be a daganat terjedésének előmozdításában. Ezek az úgynevezett tumorőssejtek a szomatikus és embrionális őssejtekhez hasonló viselkedést mutatnak, aszimmetrikus osztódással önmegújításra képesek és heterogén sejtpopulációkat is létrehozhatnak. Egyre több kutatás alátámasztja, hogy a malignus melanomák progressziója mögött is tumoros őssejtek állnak. Nem tisztázott kérdés azonban, hogy a tumorigenitásért vajon kizárólag melanomaőssejtek szubpopulációi felelősek vagy pluripotens őssejtté bármely melanomasejt dedifferenciálódhat. Jelen közlemény a pluripotens melanomaőssejtekről kíván átfogó képet nyújtani, különös tekintettel azokra a mechanizmusokra, amelyek a melanocytá-őssejtek differenciálódását szabályozzák, ugyanakkor a melanomaőssejtekben szabályozatlanul működnek. Bemutatásra kerül a mikrokörnyezet sejtjeinek, sejtadhéziós molekuláinak és szolubilis faktorainak szerepe a melanomák progressziójában és heterogenitásának kialakulásában. Végül szó esik a melanoma terjedését leíró modellekről és azokról a sejtszintű markerekről, amelyek a melanomaőssejtek elkülönítésére, újabb célzott terápiák kifejlesztésére lehetőséget nyújthatnak. *Orv. Hetil.*, 2016. 157(34), 1339–1348.

Kulcsszavak: melanoma, tumorőssejt, mikrokörnyezet, marker

Role of cancer stem cells in the progression and heterogeneity of melanoma

Over the past decade a rare cell population called cancer stem cells has been identified in both solid tumors and hematologic cancers. These cells are reminiscent of somatic and embryonic stem cells and play a critical role in the initiation and progression of malignancies. As all stem cells, they are able to undergo asymmetric cell division and hence renew themselves and create various other progenies with heterogeneous phenotypes. A growing body of literature suggested that stem cell subpopulations contribute significantly to the growth and metastatic properties of melanoma. This review gives a comprehensive overview of the current literature on melanoma stem cells, with a special emphasis on the signaling pathways responsible for the homeostatic growth of melanocytes and the uncontrolled proliferation of melanoma cells. The importance of the local microenvironment are demonstrated through summarizing the role of various cell types, soluble factors and cell adhesion molecules in the progression of melanoma and the creation of treatment resistant cancer cell clones. Last but not least, the models of melanoma progression will be introduced and a variety of cellular markers will be presented that may be used to identify and therapeutically target melanoma.

Keywords: melanoma, cancer stem cell, microenvironment, marker

Széky, B., Silló, P., Fábíán, M., Mayer, B., Kárpáti, S., Németh, K. [Role of cancer stem cells in the progression and heterogeneity of melanoma]. *Orv. Hetil.*, 2016, 157(34), 1339–1348.

(Beérkezett: 2016. március 30.; elfogadva: 2016. június 3.)

Rövidítések

ADCC = antigénfüggő celluláris citotoxicitás; ALDH1 = aldehid-dehidrogenáz-1; BMP = csont morfogénikus fehérje; dab2 = disabled homolog-2; DCT = dopachrom-automeráz;

FGF2 = fibroblast-növekedési faktor-2; HMG-CoA = 3-hidroxil-3-metilglutaril-koenzim A; IGF = inzulinszerű növekedési faktor; IL-6 = interleukin-6; JARID1B = Jumonji/AT rich interactive domain 1B; mab = monoklonális antitest; MC1R =

melanokortin-receptor-1; Mitf = microphthalmia-asszociált transzkripció faktor; MM = melanoma malignum; MMP9 = mátrixmetalloproteáz-9; NID = Notch intracelluláris domén; NOD/SCID = non-obese diabetic/severe combined immunodeficient; Pax3 = paired box 3; PDGF = vérlemezke-eredetű növekedési faktor; RPBJ- κ = recombinant signal binding protein for immunoglobulin kappa-J; RGP = radiális növekedési fázis; SCF = őssejt faktor; SDF1 = stromaeredetű faktor-1; SHH = Sonic hedgehog; Sox10 = (sex determining region Y)-box 10; SRF1 = szérum-reszponzív faktor-1; TGF- β = transzformáló növekedési faktor- β ; TNF- α = tumornekrózis-faktor- α ; TNM = tumorméret/nyirokcsomó/metasztázis; VE-cadherin = vascularis-endothelialis cadherin; VEGF = vascularis endothelialis növekedési faktor; VGP = vertikális növekedési fázis; Wnt1/3a = wingless/integrated-1/-3a

A melanoma malignum (MM, melanoma) egy rendkívül agresszív, metasztatizáló hajlamú és terápiarezisztens daganat. Noha az összes bőrdaganatnak kevesebb mint 3–5%-át teszi ki, a bőrrákos betegségek által okozott halálozások több mint 75%-át adja [1]. A melanoma azért is különösen veszélyes, mivel a többi daganattípushoz viszonyítva már az alig tapintható, vékony primer tumor is képes metasztatizációkat létrehozni. Míg a primer tumorok több mint 95%-a sebészeti beavatkozással gyógyítható, a nyirokcsomó-metasztázist hordozó betegek 5 éves túlélési aránya már 50%-ra csökken [2], a visceralis metasztatizációk pedig kritikusan alacsony, néhány hónapos medián túlélési rátával társulnak.

A melanoma a melanocyták malignus transzformációjaként alakul ki, amelyet UV indukálta napfénykárosodás vagy nem UV-indukált onkogén mutációk okozhatnak [3]. A melanoma legfőbb rizikófaktora az intermittáló UV-expozíció, különösen akkor, ha napégéssel társul korai gyermekkorban. Az UVA által indukált oxidatív károsodás, valamint az UVB által indukált mutációk leggyakrabban a *Braf* (50%) és *Nras* (20%) aktiváló mutációit okozzák [4]. A melanoma kialakulását számos protoonkogén és tumorsuppresszor gén megváltozása okozhatja, az érintett allélok magas, mérsékelt és alacsony kockázatú kategóriákba sorolják. Magas kockázatú allélnak számítanak például a *CDKN2A*, *CDK4* és a *p14ARF* mutációi. A familiáris eredetű melanomák esetében a *CDKN2A* és a *p14ARF* mutációk az esetek 30%-ában jellemzőek, a *CDK4* és a *CDKN2A* csírvonali mutációi azonban a familiáris eredetű melanomáknál ritkának számítanak [5]. A melanocortin-1-receptor (*MC1R*) és a pheomelanin eumelaninná való átalakításában részt vevő tirozináz és Tyrp-1 enzimek bizonyos genetikai polimorfizmusai szintúgy hajlamosító tényezők lehetnek [6].

A melanomák szöveti lokalizációjuk és progressziójuk szerint öt csoportba sorolhatók. Kialakulás tekintetében a melanoma lehet naevus pigmentosus talaján kialakult (veleszületett vagy szerzett) MM – a pigmentált anyajegyen MM-sajátosságok, úgymint aszimmetria, elmosódott szöveti határ, heterogén pigmentáció, növekedés, vérzés, ulceratio alakulnak ki, de az esetek jelentősebb

százalékában *de novo*, ép bőrön képződik MM. A TNM-beosztás alapján a tumor vastagsága, ulceratiója, nyirokcsomókba, valamint távoli szervekbe adott áttétei szerint a melanomák négy fő stádiumba sorolhatók. A környéki nyirokcsomók mellett az MM a nyirokutakon és véráramon át közeli és távoli áttéteket adhat bőrbe, valamint a máj, a tüdő, az agy, a gastrointestinalis traktus és a csontok is érintettek lehetnek.

Az *in situ*, intraepithelialis, széli terjedést mutató (radial growth phase – RGP) melanomasejtek osztódását a keratinocyták által termelt növekedési faktorok is befolyásolják, és ezek a tumorsejtek sejt kultúrákban képtelenek letapadás nélküli növekedésre. A vertikális növekedést mutató (vertical growth phase – VGP) melanomák ezzel szemben dermalis és subcutan rétegekben terjedve is osztódnak, és osztódásuk, valamint túlélésük független a keratinocyták növekedési faktoraitól és sejtadhéziós fehérjéitől, míg a dermalis fibroblastok a tumor progresszióját és metasztatizációs képességét támogató mikrokozonyt hozhatnak létre körülöttük [7]. A kemoterápiás szerekre kialakuló rezisztencia egyik legfőbb forrásának tűnik a melanoma heterogenitása, amelynek kialakulásához az apoptotikus jelpályák és az antitumor-immunitás hatékony gátlása mellett a tumor mikrokozonyzatában található sejtes elemek és az általuk kibocsátott faktorok is hozzájárulnak [8]. A melanoma-asszociált fibroblastok által kibocsátott citokinek (IL-6), kemokinek (CCL2, CXCL-12), valamint fibroblast-, inzulinszerű és vérlemezke-eredetű növekedési faktorok (FGF2, IGF, PDGF) és angiogenezist promótáló hormonok (vascularis-endothelialis növekedési faktor – VEGF) kiemelkedő szerepet játszanak a melanoma növekedését elősegítő szöveti niche kialakulásában [7]. A tumorasszociált mikrokozonyzat a melanomasejtekben bizonyos ABC-transzporterek és drogmolekulák enzimek expressziójának fokozódását is elősegíti. A tirozinkináz-gátlókkal szemben gyorsan kialakuló, nagymértékű rezisztenciát is ezzel magyarázzuk. A hatékony terápiás stratégiák kifejlesztéséhez meg kell ismernünk azokat a sejtszintű mechanizmusokat, amelyek a tumorok terjedése és a heterogén melanoma-szubpopulációk kialakulása mögött állnak.

Számos protoonkogént azonosítottak, amelyek csírbeli vagy szomatikus mutációja, illetve szabályozatlan expressziója a melanocyták malignus transzformációjára hajlamosít. Ezek közül kiemelendő a *Braf*p.V600E aktiváló mutációja, amely az UV-indukált primer és metasztatikus melanomák mintegy 20–50%-ában jelen van, a betegek túlélési esélyeit nagymértékben csökkenti [9]. A melanoma mucosalis, uvealis és akrolentiginózus formáiban más onkogén mutációk a gyakoribbak (*c-Kit*, *GNAQ*) [10]. A korábbi feltételezések szerint a tumoros transzformáció során – onkogén mutációk és szomatikus génexpressziós változások következtében – heterogén tumorklonok keletkeznek, amelyek közül klonális szelekcióval a drogrezisztens és metasztatizáló képű szubpopulációk válogatódnak ki (klonális hipotézis).

Mostanra azonban a melanomákban és más tumorokban is felfedeztek olyan sejteket, amelyek a szöveti őssejtekhez hasonló viselkedést mutatnak, korlátlanul osztódnak, valamint képesek heterogén tumoros sejtvonalak létrehozására. Tumorőssejteket elsőként *John E. Dick* és *Dominique Bonnet* írtak le, akik az akut leukaemiában olyan sejteket azonosítottak, amelyek a haemopoeticus őssejtekre jellemző tulajdonságokat és fehérjemarkereket hordoztak. Ezek a sejtek immunzsupprimált (*NOD/SCID*⁻) egérbe ültetve korlátlanul osztódtak és heterogén leukaemiás sejtvonalakat hoztak létre [11]. *Dick* és *Bonnet* úttörő munkásságát követően az emlő- és vastagbél-tumorokban, valamint a glioblastomákban is elkülönítettek olyan speciális sejtklónokat, amelyek a tumorok heterogén szubpopulációinak létrehozásáért, fenntartásáért és propagációjáért felelősek [12]. A tumorőssejt-hipotézist az is alátámasztja, hogy a tumorigenicitással felruházott sejtek túlélését, rezisztenciáját és differenciációs potenciálját a szöveti őssejtekben is működő jelpályák befolyásolják [13]. Szintén a tumorőssejt-hipotézis mellett szól, hogy az említett sejtklónokon olyan jellegzetes sejtfelszíni markerek expresszálódnak, amelyek az embrionális vagy szomatikus őssejtekre jellemzők. A tumorőssejtek nem feltétlenül a szomatikus őssejtek onkogén transzformációjából származnak, hanem létrejöhetnek a szöveti sejtekben bekövetkező génmutációk és génextpressziós változások következtében, vagy akár tumoros sejtek differenciált sejtekkel és őssejtekkel való fúziójával is [14].

Tumorőssejt-hipotézis és a melanoma

Melanocyta- és melanomaőssejtek: jelpályák és mikrokörnyezeti hatások

Melanocyta-őssejtek differenciálódását irányító mechanizmusok

A melanomasejtek proliferációja és differenciációja mögött olyan jelátviteli útvonalak állnak, amelyek a melanocyta-őssejtek fejlődésekor is aktiválódnak. Ezek az őssejtstádiumot szabályozó jelpályák azonban nem függetlenek a melanomát körülvevő mikrokörnyezet sejtjeitől és extracelluláris mátrix fehérjéitől, amelyek a melanocyta-őssejtek proliferációját és differenciációját is szabályozzák. Ezért a melanocyták kialakulását szabályozó mechanizmusok feltárása a melanomaőssejtek tumoriniciációban és -propagációban játszott szerepére is fényt deríthet.

A melanocyta-őssejtek neuroectoderma-eredetű sejtek, a velőscsont migráló, multipotens őssejtjeiből alakulnak ki. Noha fenotipikusan igen sokféle progenitor sejt létrehozására képesek, szinte minden velőscsont-eredetű őssejt membránjában megtalálható a p75 (CD271), mint kis affinitású neurotrophinreceptor. A velőscsont-őssejtek migrációját epithelialis-mesenchymalis tranzíciós mechanizmusok irányítják, s e folyamatban az E-cadherin gén transzkripcióss represszoraként működő Snail- és Slug-fehérjék kiemelkedően fontosak [15]. A multipo-

tens velőscsont-eredetű őssejtek osztódásaik során bipotens, gliális melanocytaprogenitorokat hoznak létre. A bispecifikus progenitorok melanoblastirányba való elköteleződésében a Wnt1 és Wnt3a morfogének által közvetített jelátvitel kiemelkedő szerepét igazolták [16]. A Wnt (wingless/integrated) jelpálya aktivációja, valamint következményesen a β -catenin transzkripcióss faktor stabilizációja és sejtmagi transzlokációja a melanogenezisért felelős gének (microphthalmia-asszociált transzkripcióss faktor – Mitf, dopachrom-tautomeráz – DCT) indukcióját vonja maga után. A Wnt-re deficiens egerekben a melanoblastok teljes hiányát mutatták ki, a β -catenin túlzott mértékű expressziója pedig a gliális előalakok elvesztését okozta a melanoblastok nagymértékű proliferációjával szemben.

Differenciációjukkal párhuzamosan a melanoblastok az epidermis basalis rétegébe, valamint a szőrtüszők külső gyökérhüvelyébe vándorolnak. Itt részesülnek azokban a szignálokban és sejt-sejt kölcsönhatásokban, amelyek a melanocyta-őssejt-készlet nagyságát és differenciációját, valamint a melanocyták pigmenttermelését szabályozzák. A melanocyta-őssejtek érése a szőrtüszőben található epidermalis őssejtek és follicularis sejtek, a dermisben pedig a keratinocyták irányítása alatt áll. A belső gyökérhüvely melanocyta-őssejtjei lassan osztódnak, nem pigmentált (amelanocitikus) sejtek, számuk és differenciációjuk a szőrtüszőciklus fázisaival összehangoltan változik. Az anagén fázist a melanocyta-őssejtek expanziója és a pigmentált melanocyták megjelenése kíséri, amit a catagen és telogén fázisban a tüsző regressziója és az őssejtkészlet apoptózissal való redukciója követ. Az egyes fázisokat jellegzetes jelátviteli mechanizmusok aktiválódása jellemzi, a jelátviteli kaszkádok génjeinek kiütése vagy csendesítése pedig az érett melanocyták és a szőrpigmentáció hiányával jár együtt. A géncsendesítéses és génkiütéses kísérletek során a melanocytaprekurzorok őssejtstádiumát fenntartó és a melanocyta-őssejtek melanoblastokká való differenciálódását stimuláló szignáltranszdukciós útvonalakat azonosítottak.

A melanocyta-őssejtek terminális differenciálódásának egyik legfontosabb mechanizmusa a Pax3 (paired box 3) és Mitf transzkripcióss faktorok interakciója [17]. A Pax3 aktiválja a Mitf kifejeződését, viszont kompetitíven gátolja a Mitf kötődését a melanin-bioszintézisben kulcsszerepet játszó enzim, a DCT átírását aktiváló enhancerhez. A differenciációt a Wnt1- és Wnt3a-mediált jelátviteli folyamatok aktiválják azáltal, hogy a Sox10 ([Sex determining region Y]-box 10) transzkripcióss faktor expressziójának serkentésével a Mitf és a DCT kifejeződését indukálják. A Wnt-szignalizáció és a β -catenin túlzott mértékű aktiválása, valamint a β -catenin gén csendesítése egérmódelben egyaránt a szőrpigmentáció elvesztéséhez vezetett. Előbbi esetben a szabályozatlan differenciáció folytán a melanocyta-őssejt-készlet kimerülése következett be, míg a β -catenin hiányában a melanocyta-őssejtek nem voltak képesek pigmentált utódsejteket létrehozni.

A keratinocyták által termelt őssejtfaktor (stem cell factor – SCF) a melanocytá-őssejtek érését a c-kit receptoron keresztül stimulálja. A c-kit receptorok által mediált jelátvitel nem csupán a haemopoeticus őssejtek és a melanoblastok differenciációjához szükséges, hanem a melanocytá-őssejtek migrációját is befolyásolja. Egérben, zebrahalban, valamint embernél a piebaldizmusnak nevezett autoszomális domináns betegségben a c-kit mutációja nem csak a melanocyták csökkent számával és a pigmentáció hiányával jár együtt. Azt is megfigyelték, hogy a mutációt hordozó melanocyták közelebb találhatók keletkezésük helyéhez, tehát kisebb motilitással bírtak, mint a vad típusú sejtek [18].

A neuralis és melanocytá-őssejtek differenciációs státuszát a sejt–sejt kölcsönhatások alapvetően meghatározzák. Mindkét őssejt-populációnál leírták a differenciáció laterális gátlását, amelynek során az őssejt-populáció néhány sejtje a differenciálódás irányában elkötelezetté válik, miközben az őt körülvevő szomszédos sejtek megőrzik differenciálatlan állapotukat. A differenciált sejtek ilyen módon való kialakulását a Notch receptor és sejtfelszíni ligandjai (Jagged, Delta) szabályozzák. A Notch-Delta kölcsönhatás olyan proteázokat aktivál, amelyek a Notch intracelluláris doménjét (NID) hidrolizálják. A NID-fragmens a sejtmagba transzlokálódik és az RPB-J κ (immunglobulin J κ rekombináns szignált kötő protein) transzkripciósi faktoralal kölcsönhatásba lépve aktiválja a differenciációért felelős géneket. A Notch-szignalizáció melanocytadifferenciációban játszott szerepét támasztja alá, hogy a NID lehasításának gamma-szekretáz-gátlókkal való megakadályozása vagy az *RPB-J κ* gén deficienciája egérben depigmentált fenotípust hoz létre [19].

A differenciálódást indukáló stimulusok mellett a melanocytá-őssejtekre olyan szignálok is hatással vannak, amelyek a differenciációt gátolják, viszont a megfelelő számú őssejt fennmaradását elősegítik. A mikrokozonyzet sejtjei Wnt-szignalizációt gátló faktorokat (dab2, SRF1) és TGF- β -t (transforming growth factor β) szekretálnak, amely jelzőmolekuláknak kiemelkedő szerepe van az őssejtstátusz fenntartásában. Melanocytá-őssejtekben a TGF- β receptorainak aktivációja a sejtciklus fel-tartóztatásához vezet és csökkenti a melanogenezist aktiváló Mitf és Pax3 fehérjék, valamint a melanin bioszintézisben részt vevő enzimek expresszióját [20].

A melanocytá-őssejtek fejlődését és fennmaradását biztosító niche-hez a megfelelő biokémiai és biomechanikai tulajdonságokkal bíró extracelluláris mátrix megléte elengedhetetlen [21]. Az extracelluláris mátrix fehérjehálózatai segítenek egymás közelségében tartani a melanocytaniche-t fenntartó és reguláló sejteket, hírvivő molekulák rezervoárjaként szolgálnak, valamint a sejtek migrációját és epithelialis–mesenchymalis transzformációját barrierként korlátozzák. A melanocytá-őssejt-niche fenntartásában kiemelkedő szerep jut a tüszőkben található epithelialis (keratinocytá) őssejteknek. Az epithel-őssejtek által szekretált hemidezmoszomális kollagén, a kollagén XVII hozzákapcsolja a melanocytá-őssejteket a

szőrtüszők basalis membránjához. A kollagén XVII-tel való kölcsönhatás gátlása a melanocytá-őssejtek korai differenciációját és az őssejtkészlet kimerülését okozza [22].

Diszregulált mikrokozonyzet és reaktív stroma: a szöveti mikrokozonyzet és a tumorőssejtek szerepe a szolid tumorok és melanomák progressziójában

Egyre több bizonyítékunk van arra nézve, hogy a melanoma iniciációjáért, progressziójáért és drogrezisztenciájáért a pluripotens őssejtek markereivel és jelpályáival működő sejtek felelősek. A melanoma – és más szolid tumorok – növekedéséhez és metasztázisához azonban a tumor mikrokozonyzetében található differenciált sejtek-re is szükség van. Ezek a tumorasszociált sejtek származhatnak a tumort körülvevő stromalis állományból vagy az immunrendszer regulátoros sejtjei is lehetnek. A tumor növekedését és terjedését támogató mikrokozonyzet a normális szöveti milió megváltozásával jön létre, amely magában foglalja a szöveti homeosztázist szabályozó jelátviteli folyamatok, valamint a sejt–sejt kapcsolatok és az extracelluláris mátrixszal való kölcsönhatások szabályozatlanná válását [23]. A tumorasszociált fibroblastok olyan kemokinmolekulákat (CCL2, CSF1) szekretálnak, amelyek hatására a csontvelői őssejtek és a regulátoros immunsejtek a tumoros szövethez migrálnak. A tumort körülvevő szöveti niche-ben ezért krónikus gyulladási állapot jön létre, ahol az egyre nagyobb számban megjelenő tumorinfiltráló sejtek gátolják az antitumor-immunitást, elősegítik az angiogenezist és a tumoros sejtek proliferációját.

A tumoros sejtek szekretált hírvivő molekulái, mint például a vérlemezke-eredetű növekedési faktor (PDGF) és a stromaeredetű faktor-1 (SDF1) a fibroblastokat a tumor köré toborozzák [24]. Ugyanezek a hírvivők megváltoztatják a fibroblastok génextpresszióját, amely által azok a tumor körül fibrotikusabb extracelluláris mátrixot hoznak létre. A módosult extracelluláris mátrix kihatással van a sejtadhézióhoz kapcsolt szignalizációs folyamatokra. Megfigyelték, hogy a tumorasszociált fibroblastok nagy mennyiségű kollagén I-et termelnek, amely denz hálózatot alkot és fellazítja az E-cadherin-mediált sejt–sejt kölcsönhatásokat [25]. Ennek következtében a sejtekben felszabadul β -catenin, a sejtmagba transzlokálódik és proliferációt serkentő gének transzkripcióját aktiválja. A tumor és az aktivált fibroblastok olyan mátrixmetalloproteázokat is nagy mennyiségben szecernálnak, amelyek degradálják a sejtadhéziós molekulákat és az extracelluláris mátrixfehérjéket [26]. Következésképpen nő a tumorsejtek inváziója és motilitása, másrészt pedig a mátrixhoz kötött növekedési hormonok és angiogenezist promótáló faktorok (VEGF, FGF2) is felszabadulnak. A mátrixmetalloproteázok (MMP) némelyike, mint például az MMP9, szükséges a tumor-mikrokozonyzetben található citokinek aktiválásához. Az MMP9 metalloproteáz aktiválja a tumorok és a fibroblast sejtek által termelt TGF- β -t. Az ilyen módon akti-

vált TGF- β elősegíti az immunszuppresszor regulátoros T-sejtek, plazmocitoid dendritikus sejtek és M2 típusú makrofágok kialakulását, amelyek az antitumor-immunitást közvetítő citotoxikus T-sejteket és a természetes öltősejteket (natural killer vagy NK-sejtek) gátolják [27]. Spinocelluláris carcinoma-összejtekben azt is leírták, hogy a fibroblastok által szekretált TGF- β aktiválja a carcinoma-összejtek TGFBR2 receptorait, amely mechanizmus szükséges a heterogén, drogrezisztens sejtklónok kialakulásához [28]. Fontos megjegyezni még, hogy a tumorasszociált stromasejtek nem csupán a tumor növekedéséhez és túléléséhez szükséges faktorokat és sejtkölcsönhatásokat közvetítik, hanem hozzájárulhatnak a metasztatikus tumorsejteket befogadó szöveti milió, az úgynevezett premetasztatikus mikro-környezet létrehozásához. A premetasztatikus niche kialakításának hátterében meghúzódó mechanizmusok még jórészt felderítetlenek, a tumormetasztázist támogató citokinek (VEGF-A, TNF- α – tumornekrózis-faktor- α) és sejtes elemek szerepére már kezd fény derülni.

A melanomák növekedését és progresszióját segítő niche kialakulásában a melanoma-összejtek aktívan részt vesznek. A melanoma-összejtekben is aktívak azok a jelpályák, amelyekeken keresztül a keratinocyták és follicularis sejtek a melanocyták differenciációját és proliferációját szabályozzák. Sőt ugyanezen jelátviteli mechanizmusok némelyike a melanoma-összejtek epithelialis–mesenchy-

malis tranzíciójában és migrációjában is fontos szerepet játszik. A TGF- β -családba tartozó jelzőmolekulák, mint maga a TGF- β , a csont morfogénikus fehérje (bone morphogenic protein – BMP) és a Nodal változatos funkciókat töltenek be a melanoma-összejtekben. A melanoma-összejtek által szekretált TGF- β nem csupán az antitumor-immunitást szuppresszálja, hanem autokrin faktorként a melanomasejtek receptoraira is hat [29]. Ez az autokrin stimuláció a Smad7 transzkripció aktivátor által közvetített módon a melanomasejtek csontvelői metasztázisát és prometasztatikus faktorok (CXCR4, osteopontin) termelését fokozza. A BMP-ről, mint az embrionális vasculogenesis egyik legfontosabb hormonjáról, bebizonyosodott, hogy a melanomasejtek angiogeneziséhez is szükséges. A melanomasejtek által szekretált BMP4 az endothelsejtek migrációját és a tumor körüli mikroérhálózat kialakulását indukálja [30]. MM-összejtekben az embriogenezist szabályozó, a differenciált sejtekben inaktív jelpályák is reaktiválódnak. Ezek közé tartozik a Nodal, amely receptorával (Cripto-1) együtt a VGP-melanomákban fokozott mértékben koexpresszálódik. VGP-melanomából származó mintákban *Elisabeth Seftor és mtsai* egy speciális RNS-hibridizációs módszer (SmartFlare), valamint fluoreszcenciaaktivált sejtválogatás felhasználásával a Nodalt intenzíven és alacsony mértékben expresszáló szubpopulációkat azonosítottak [31] (1. táblázat). *In vitro*, a Nodalt intenzíven expresszáló

1. táblázat | Jellegzetes markerek melanoma-összejtekben

Marker	Eredet	Egérmodell	Tumorigenitás	Metasztázis	Gátlás/terápiás lehetőség	Referencia
CD20	Pre-B-sejtek	SCID	Korlátlan osztódás <i>in vitro</i> és <i>in vivo</i> , multipotens utódsejtek	Nincs adat	Rituximab, anti-CD20 mab	[38]
CD133	Haematopoeticus és neuralis összejtek	NOD/SCID	Tumorigenezis <i>in vivo</i> (és <i>in vitro</i>), bizonyos sejtvonalakban koexpresszió ABCB5-tel vagy Nodallal	Anti-CD133 mab mellett csökkent	Anti-CD133 mab	[43]
ABCB5	Primer melanocyták	NOD/SCID, NSG	<i>In vivo</i> tumorigenezis, szekunder tumorok létrehozása, tumorheterogenitás regenerálása	Cirkuláló tumorsejtek NSG-egérben	Anti ABCB5 mab (ADCC, tumornövekedés gátlása)	[42]
CD271	Velőcsősi neuralis összejtek	Rag2 ⁿ /γ ^c , NSG, NOD/SCID	Heterogén, multipotens tumorok létrehozása, akár 4< passzázs után is	NSG és Rag2 ⁿ /γ ^c egérben; korreláció CD271-expresszióval	Nem ismert	[44]
ALDH1A	Haematopoeticus, neuralis és prosztataeredetű összejtek	NOD/SCID, NSG	Fokozott tumorigenitás és gyógyszer-rezisztencia	Nincs adat	<i>In vitro</i> siRNS; fokozott gyógyszer-szenzitivitás	[45]
Nodal	Embriionális szövetek; trophoblast, emlőmirigy	Athymicus („nude”)	Fokozott tumorigenitás	Fokozott áttétképzés (C8161 sejtek; tüdőmetasztázis egérben)	Anti-Nodal mab; a metasztázis és a sejttúlélés csökkent	[31]

ADCC = antigénfüggő celluláris citotoxicitás; mab = monoklonális antitest.

sejtpopuláció fokozott tumorigenitást mutatott, sőt a melanomaprogresszióval asszociált markert, a CD133-at is kifejezte. Mivel a Nodal-szignalizáció az agresszív melanomákban szignifikánsan aktívabb, így ez a morfogén nem csupán a melanomanövekedés, hanem a melanomaprogresszió és -metasztázis biomarkerévé is válhat.

A korábbi elképzelésekkel szemben a tumorok által létrehozott érhálózatot nem kizárólagosan differenciált endothelsejtek alkotják; a vasculogenesisben endothel-szerű sejtalakokká differenciálódó melanomaőssejtek is részt vesznek, amelyek denz extracelluláris mátrix létrehozása mellett képesek a tumorvasculatúrába is beépülni. Az endothelsejtekből és a tumorőssejtek progenitoraiból létrejövő tubularis struktúrákon keresztül tumorsejtek, angiogenezist serkentő faktorok és tápanyagok cirkulációját figyelték meg. Ez a tumorsejteket transzformáló mechanizmus az úgynevezett vascularis mimikri, amelyet hypoxiás szöveti milió, VEGF és differenciációt stimuláló molekulák indukálnak [32]. A vasculogenicus mimikri létrehozásában olyan agresszív cutan és uveális melanomaszubpopulációk vesznek részt, amelyek az embrionális vasculogenesishez is nélkülözhetetlen VE-cadherin (CD144) sejtheadziós molekulát expresszálják [33]. A VE-cadherin kritikus szerepet játszik a tumormikroérhálózat kialakulásában, mivel expressziójának csökkentése gátolta a tumor-angiogenezist és melanomasejtek vasculogenicus hálózatokba való beépülését. A vasculogenicus mimikri jelensége magyarázatként szolgálhat arra, hogy az angiogenezist gátló szerek az invazív tumorokkal szemben eddig miért nem bizonyultak kellően hatékonyak.

Nagyfokú differenciációs plaszticitásuknak köszönhetően a melanomaőssejtek nemcsak a vasculogenicus mimikriben vehetnek részt, hanem chondrocyta, adipocyta, melanocyta, gliális és neuralis sejtalakokká is transzdiffereciálódhatnak. A melanomaőssejtek proliferációját és differenciációját a melanocytaérésben és a szőrtüsző-megújulásban is szerepet játszó molekuláris mechanizmusok irányítják. A Sonic hedgehog (SHH) mediálta jelátvitel szerepét például a tüszőérésben és a melanocytaproliferációban egyaránt igazolták, ugyanakkor kimutatták azt is, hogy az SHH a humán melanomasejtek proliferációjában és metastázisában is szerepet játszik [34]. A melanocytaőssejtek érését szabályozó másik kulcsfontosságú mechanizmus a β -catenin stabilizációja és sejtmagi transzlokációja, amelynek szerepét a melanogenesis jelentőségében már korábban említettük. Az invazív melanomasejtek legtöbbszörében a β -catenin-mutáció vagy az aberráns Wnt- és Notch-jelátvitel miatt konstitutívan aktiválódik [35]. Érdekes módon a β -catenin gén egy ritka pontmutációját Wang és mtsai az általuk vizsgált rekurrens metastatikus tumorok mindegyikében kimutatták [36]. Ez a felfedezés amelltt a hipotézis mellett szól, miszerint a melanomák metastázisait és a primer melanomákat a tumor egy kisebb szubpopulációjának utódsejtjei hozzák létre.

Őssejteredetű markerek melanomában

A szöveti és embrionális őssejtek érésük során különböző fejlődési irányba elkötelezett progenitor sejteket hoznak létre, amelyekből a megfelelő stimulus hatására differenciált sejtek képződnek. Az őssejtállapotra több olyan sejtfelszíni és intracelluláris fehérje expressziója jellemző, amelyek az érett sejteken nem vagy csak minimális mennyiségben, illetve eltérő kombinációban vannak jelen. A legtöbb szolid tumor belsejében és leukaemiás sejtekben is felfedeztek olyan, korlátlan osztódási potenciállal bíró sejtklónokat, amelyek jellegzetes markereket expresszáltak és heterogén tumoros sejtvonalat hoznak létre. Ennek megfelelően a tumorőssejt-hipotézis is feltételezi olyan sejtfelszíni vagy sejten belüli markerek jelenlétét, amelyek a tumorprogresszióért felelős szubpopulációnak a többi tumorsejttől való elkülönítését elősegíthetik [37]. A potenciális tumorőssejtmarkerekkel szembeni alapfeltételezés az, hogy azok az őket hordozó sejtvonalakban szelektíven és stabilan expresszálódnak. Ennek ellenére *in vitro* körülmények között számos őssejteredetű fehérje expressziója dinamikus változást mutat és nem minden esetben van összhangban a sejtek osztódási potenciáljával. *In vivo* viszont a legtöbb xenotranszplantációs kísérletben, ahol a tumoros sejteket immunszupprimált egérbe ültették, a tumorok növekedése, differenciációs plaszticitása és metastatizáló hajlama korrelált a vizsgált markerek jelenlétével. (A markereket és a markerpozitív melanomasejtek tulajdonságait az 1. táblázat foglalja össze.)

A CD20-at elsőként a pre-B-fázisban levő B-sejteken fedezték fel, mint a B-sejtek plazmasejttéérésében és antigén-prezentációjában szerepet játszó transzmembrán fehérjét. A melanomatumorok vizsgálatokor Fang és mtsai felfedeztek olyan nem adherens, szferoidképző tumorsejteket, amelyek a CD20-ra pozitívak voltak [38]. A CD20⁺ melanomasejtek sokkal multipotensebbnek bizonyultak a CD20-at nem hordozó sejteknél, olyannyira, hogy neuralis, osteocyta-, adipocyta- és chondrocyta-progenitorokhoz hasonló sejtalakokat is képesek voltak létrehozni. A CD20⁺ sejtek viszont nem mutattak nagyobb tumoriniciátor kapacitást a CD20⁻ adherens populációkhoz képest, ráadásul differenciációs képességük is idővel csökkent. Ugyanakkor a CD20 ellen kifejlesztett immunsejt- [39] és antitest-terápia [40] ígéretes eredményeket hozott a melanomasejtek progressziójának megakadályozásában. Mindez arra utal, hogy a CD20⁺ melanomasejteknek komoly jelentősége van a melanomák heterogenitásában és terjedésében.

A kemoterápiás szerek ellen a tumoros sejtek ABC-transzporter fehérjék upregulációjával védekeznek. Mivel az ABC-transzporterek fokozott mértékű expressziója a melanocyta-őssejtekre is jellemző tulajdonság, így elképzelhető, hogy melanomaőssejt-markerként ilyen fehérjék is szolgálhatnak. Az eddigi kutatások alapján az ABCG2 és ABCB5 fehérjék hozhatók leginkább összefüggésbe a melanomák progressziójával. Az ABCG2

overexpressziója rezisztenciát nyújt a tumorok számára számos tirozinkináz-gátlóval (imatinib, gefitinib), antibiotikummal és HMG-CoA-reduktáz inhibitorral szemben [41].

Az ABCB5 a doxorubicin ellen is rezisztenciát biztosít, expresszióját a primer melanomák 11%-ában és az amelanotikus melanomasejtek 3%-ában egyaránt kimutatták. Az ABCB5-ről cirkuláló melanomasejtekben már bizonyították, hogy képesek metasztatizálni *NOD/SCID/ILR2 γ* (NSG) egérben, sőt az ABCB5-öt expresszáló melanomasejtekben a melanoma-asszociált antigének (PD1, B7.2) és az MHCII-mediált antigén-prezentáció csökkenését is megfigyelték [42].

A CD133 (Prominin-1) a haematopoieticus és neuralis őssejteken is kifejeződő, öt transzmembrán egységes fehérje, funkciója az őssejtállapot fenntartása [43]. Mivel a melanocita-őssejtek a migráló velőcső neuralis őssejtekből alakulnak ki, így jogos a feltételezés, hogy a melanoma-őssejtek membránjában is jelen lehet. *NOD/SCID* egérben a CD133⁺ sejtek tumorokat hoztak létre, humán melanomás biopsziákban pedig a primer tumorok 39%-a és a metasztázisok 46%-a bizonyult CD133-ra pozitívnak. Más kísérletek ugyanakkor nem minden primer melanomában és metasztázisban találtak CD133⁺-szubpopulációkat, így a CD133 szerepe mint univerzális melanoma-őssejt-marker egyelőre kérdéses.

A CD271 vagy p75^{NTR} az embrionális velőcső neuralis őssejtekben található, kis affinitású neurotrophinreceptor. A CD271⁺ melanomasejtek rendkívül nagy tumoriniciáló és metasztázisképző hajlammal bírnak, több egymást követő xenotranszplantáción keresztül is tumorigének [44]. Ráadásul a létrehozott tumorokon belül melanocyticus, gliális, simaizom- és neuronszerű sejtvonalak fejlődtek ki, amelyek a CD271⁺ tumorok multipotenciáját indikálják. A CD271 marker értékét fiziológiásan relevánsabb kísérleti körülmények között is igazolták; humán bőrből és csontszövetből vett melanomasejtek NSG-egérben szintén tumoros őssejtként viselkedtek.

Az őssejtszerű tulajdonságokat hordozó melanomasejtekben az aldehid-dehidrogenáz (ALDH) 1-es és 3-as izoenzimének magas aktivitását mérték. Ezek az enzimek az intracelluláris aldehidek metabolizálásáért felelősek, így védelmet nyújtanak az alkilálószeres széles spektrumával szemben. *Luo és mtsai* megmutatták, hogy az ALDH1-et expresszáló sejtek valóban a tumorőssejtekre jellemző tulajdonságokkal bírnak, és az ALDH1 siRNS-sel való csendesítése e sejtek körében szenzitizáló hatású volt, a citosztatikumok által indukált sejthalál mértékét növelte [45].

Tumoros őssejtek és tumorszubpopulációk kialakulásának modelljei

Jelenleg élénk tudományos vita folyik arról, hogy a tumorőssejtek vajon a tumor egy elkülönült szubpopulációját alkotják, amely a daganat terjedését és heterogén sejtklónjainak kialakulását szabályozza vagy a tumorige-

nicitás és az őssejtekre emlékeztető plaszticitás bármely tumorsejtben kialakulhat.

A tumorőssejt-elmélet sztochasztikus modellje szerint egy tumoron belül minden sejt funkcionálisan ekvivalens, azaz bármely tumorsejt képes korlátlanul osztódó sejté dedifferenciálódni. Az őssejtszerű állapot felvétele a környező sejtek által közvetített stimulusoktól függ, amelyek fiziológiás körülmények között a szomatikus őssejtek differenciációját szabályozzák. A hierarchikus modell alapfeltevése viszont az, hogy a tumorprogressziót tumorigén-szubpopulációk kisebb frakciója irányítja. Ezek az úgynevezett tumorőssejtek, amelyek korlátlan osztódással a daganatban genetikailag és epigenetikailag heterogén tumorszubpopulációkat hoznak létre, mintegy a tumordifferenciációs hierarchia élén állva.

A hierarchikus modell érvényességét az őssejtmarkereket kifejező tumorsejtek egérszövetbe való beültetésével próbálják igazolni. A markert hordozó sejtektől azt várják, hogy a markert nem expresszáló sejtvonalakhoz viszonyítva szignifikánsan nagyobb tumorigenitást mutatnak. A markerértékűnek tartott fehérjék legtöbbször eddig megállapították, hogy a tumorsejtek kis százalékában voltak kimutathatók, expressziójuk pedig korrelációt mutatott a markert hordozó sejtek agresszivitásával, gyógyszerrezisztenciájával és metasztázisképző hajlammal. Sok fehérjénél azonban megkérdőjeleződött, hogy a tumorőssejtek egyedi és stabilan kifejeződő markere lehetne. Ezzel szemben bizonyos markerek reverzibilisen expresszálódtak, azaz a markerre negatív sejtek is képesek voltak a markert expresszáló szubpopulációt létrehozni. A reverzibilis markerek sokat tanulmányozott példája közé tartozik a Jumonji/ARID hiszton-demetiláz családba tartozó H3K4 demetiláz enzim, a JARID1B is [46]. Humán melanomás szövetmintákban és kondicionált humán embriósejtes médiumban a JARID1B-t a melanomasejtek kis százalékában intenzív expressziót mutatott. Ezek a sejtek lassan osztódtak, ellenben nagy proliferációs kapacitással rendelkeztek. Sőt a JARID1B-t nem expresszáló melanomasejtek is később a markerre pozitívvá váltak és további fenotipikus markereikre való tekintet nélkül tumorigénnek bizonyultak. A JARID1B-vel kapcsolatos eredmények arra hívják fel a figyelmet, hogy a tumorőssejtszűrés nem feltétlenül korlátozódik egy, a tumor belsejében található speciális sejtvonalra, azaz bármely tumoros sejt idővel az őssejtekre jellemző plaszticitást felveheti.

Szem előtt kell tartani azonban, hogy egy adott markerre pozitív tumorpopuláció osztódási potenciálját és génexpressziós profilját a tumorsejt-preparáció technikája, a kondicionáló médium összetétele, valamint a xenotranszplantációhoz felhasznált egérmodell különbözőképpen befolyásolhatja [37]. Az őssejtmarkereket hordozó melanomasejtek ugyan a melanomák akár kevesebb mint 1%-át is alkotják, a xenotranszplantáció esszé módosításával a tumoriniciációra képes sejtek arányát a markerexpressziós profiltól függetlenül, akár 25%-ra is megnövelhetik. Ilyen szempontból nagyon is releváns kérdés, hogy a melanomában azonosított markerek

kijelölnek-e egy különálló, tumorigén sejtpopulációt vagy a sejtfelszíni proteom mintázattól függetlenül bármely tumorsejtklonok képesek a recipiens szövetben tumort létrehozni.

A melanomás daganatokat különösen nagy intratumor-heterogenitás jellemzi, és számos kísérleti eredmény arról tanúskodik, hogy a melanoma-össejt-populációk nem hierarchikus modell szerint vesznek részt a tumor progressziójában. *Quintana és mtsai* például megfigyelték, hogy a CD271 össejtmarkerre negatív melanomasejtvonalak is képesek voltak NSG-egérben tumorok létrehozására és metasztázisok képzésére [47]. Sőt a fenotípusra való tekintet nélkül, szinte minden tumorból izolált sejt képes volt a xenotranszplantációt követően olyan tumorokat létrehozni, amelyekben már markerpozitív sejtek is jelen voltak. Kérdés marad tehát, hogy a markerek dinamikus expressziója mennyiben tudható be a kísérleti körülményeknek, illetve mennyire tükrözi a tumor természetes szöveti környezetében jelen levő fejlődési viszonyokat.

Terápiás stratégiák melanoma-össejtmarkerekkel szemben

Jelenlegi ismereteink szerint még kérdéses, hogy a melanomatumorokon belül elhatárolhatók-e tumorigenitáért felelős össejtek, azaz, hogy a tumoros össejtek hierarchikus hipotézise a melanomára mennyire érvényes. A kérdés tisztázása kulcsfontosságú ahhoz, hogy a melanoma ellen hatékony célzott terápiákat fejleszthessünk ki. Az eddig megismert és melanoma-sejtvonalakon is azonosított markerfehérjék között azonban vannak olyanok, amelyek szerepét nem csupán a melanocytá-, hanem a melanomasejtek túlélésében, osztódásában és differenciálódásában is igazolták.

A markeralapú terápiákat két fő csoportra lehet felosztani. Az egyik megközelítés a melanomasejtek differenciációját irányító jelátviteli mechanizmusok gátlását célozza. Ilyen esetekben a melanomasejtek plaszticitásának és osztódási potenciáljának csökkenését várjuk, amely a tumor propagációját lassítja. A másik stratégia szerint a melanomasejtekben specifikusan kifejeződő sejtfelszíni antigéneket célozzuk meg. Mivel a melanomasejteken azonosított markerek a szomatikus össejteken is jelen vannak, a specificitás hiánya és a nemkívánatos mellékhatások kockázata mindkét stratégiánál fennállhat. Ezért a módszerek hatékonyságáról és toxikus mellékhatásairól a megfelelő kísérleti modellekben való teszteléssel meg kell győződni.

A neuralis össejtekben kifejeződő transzkripciósfaktor, a Sox10 a velőscső kialakulása mellett a melanocytá-össejtek differenciációját is szabályozza, de az össejttulajdonságok fenntartásáért a melanomasejtekben is felelős [48]. Humán melanomasejtek xenotranszplantációjakor a Sox10 expressziójának csökkentése az Nras p.Q61K mutációját hordozó, valamint a Sox10 haploinsufficiens egerekben a melanomás daganatok képződését szinte teljesen meggátolta. *In vitro* melanomakultúrákban a

Sox10 génjének elcsendesítése a sejtek fokozott mértékű apoptózist, a CD271 expresszióját csökkentette, valamint gátolta a melanocytaszerű sejtalakok kialakulását. A melanomasejtek differenciációjában részt vevő jelátviteli fehérjék gátlása tehát nemcsak a tumoriniciáció ellen hat, hanem a tumorok növekedését és a heterogén tumorklonok kialakulását is megfékezheti.

A sejtfelszíni antigének közül a CD20 meglehetősen ígéretes célpontnak bizonyult a tumor-immunterápiás eljárások kidolgozásához. NSG-egerekbe xenotranszplantált melanomasejtek által létrehozott tumorokat sikeresen eradikáltak a CD20 ellen kifejlesztett citotoxikus T-sejtekkel [39]. A T-sejteket olyan kimérareceptorral transzfektálták, amelynek extracelluláris doménje egy anti-CD20 antitest antigénköti (Fab) régióját hordozta, citoplazmatikus doménje pedig a T-sejtek aktiválódásáért felelős CD3 ζ intracelluláris doménjét tartalmazta. Humán klinikai kísérletekben IV-es stádiumban levő melanomás betegekben a rituximab (CD20 elleni antitest) a betegek kétharmadánál megakadályozta a tumorok kiújulását egy 42 hónapos megfigyelési időn belül [40]. A CD20 elleni immunterápiák ugyanakkor együtt jártak a CD20⁺ B-sejtek számának csökkenésével. Fontos kérdés tehát tisztázni, hogy ezek a B-sejtek tumorinfiltráló sejtekként viselkedhetnek vagy szerepük inkább az anti-tumor-immunitásban van.

A melanomák hisztológiai analízise során kiderült, hogy kevés melanin még az amelanocitikus melanomasejtekben is termelődik. Intracelluláris lokalizációjuk miatt melanin és a melanoszómák önmagukban monoklonális antitesttel nem targetálhatók, viszont a rapid módon növekedő melanomatumorok belsejében fellépő sejtnekrózis folytán az extracelluláris térbe melanin szivárog ki. Ezen extracelluláris melaninmolekulák ellen *Thomas Janzl* laboratóriuma sugárzó izotóppal (¹⁸⁸Re) jelölt monoklonális antitesteket fejlesztett ki, remélve, hogy a melanint felismerő antitestek a hozzájuk kötött β -sugárzó izotóppal célzottan károsítják a tumorsejteket [49]. Az általuk alkalmazott radioimmunterápia segítségével lényegesen csökkentették az egerekben létrehozott xenografftumorok méretét, ráadásul a tumorok belsejébe juttatott izotóp az ABCB5-re és a JARID1B-re pozitív melanomasejtek számát szignifikáns különbség nélkül csökkentette. A tumorokhoz célzottan eljuttatható, de a melanomasejteket fenotípustól függetlenül elpusztítani képes antitestek kifejlesztése nagy segítséget nyújthat a melanomás megbetegedések hatékony kezelésében.

Következtetések

A tumorok ellen kifejlesztett terápiák és citosztatikumok legtöbbje eddig a daganatok gyorsan osztódó sejtjei ellen irányult. Az onkogének aktivitását gátló szerek ellen azonban idővel rezisztens tumorsejtklonok jelennek meg. A rezisztens tumorsejtek a citosztatikumok hatásai ellen transzporter molekulák és drogmolekulák enzim expressziójának fokozásával, valamint az apoptózis

gátlásával és alternatív onkogén jelpályák aktivációjával is védekeznek. A figyelem ezért egyre inkább e heterogén és drogrezisztens tumorok kialakulásának mechanizmusai felé fordítódik. Napjainkra már számos daganattípusban azonosítottak olyan multipotens tumorsejteket, amelyek nagy tumoriniciációs potenciált hordoznak, valamint heterogén tumorsejt-fenotípusokat hoznak létre. A tumorossejt-teória azt feltételezi, hogy a tumorok és így a melanomák terjedését és növekedését is ezek a korlátlan osztódásra és differenciációra képes sejtek irányítják. Ezt a hipotézist azok a felfedezések támasztják alá, amelyek szerint (1) a tumorok belsejében őssejtmarkereket expresszáló és (2) differenciációt szabályozó jelpályákkal szignalizáló sejteket azonosítottak. A tumorossejtek markereinek feltárása kiemelkedő előrelépést jelenthet a daganatok növekedésének megállítására kidolgozott újabb terápiákban.

A melanomák nagyfokú heterogenitása és dinamikus sejtfelszíni fehérjeexpressziója miatt egyre inkább valószínűnek tűnik, hogy a melanomasejtek bármelyike idővel pluripotens utódsejteket hozhat létre. A melanomára tehát a tumorterjedés sztochasztikus modellje lehet inkább érvényes, noha ennek eldöntéséhez még több meggyőző kísérleti bizonyíték szükséges. Amennyiben a hierarchikus modell érvényessége a melanoma progressziójában be is igazolódna, megválaszolható kérdés marad, hogy a heterogén melanoma-sejtvonalak mennyire különböző módon és mértékben járulnak hozzá a daganat növekedéséhez. Ugyanakkor a feltételezett melanoma-őssejtmarkerekre (ABC5, CD20) alkalmazott antitestek és immunterápiás stratégiák az egérmodellekben, valamint a klinikai kísérletekben igen nagy hatékonysággal kecsegtetnek. A melanoma kialakulását, heterogenitását és terjedését irányító sejtes és molekuláris mechanizmusok feltárása a betegség hatékony kezelésében és magas mortalitási arányának csökkentésében jelentős átöröst hozhat.

Anyagi támogatás: A közlemény megírását az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok Pályázat (OTKA NN 114460, témavezető: Prof. Dr. Kárpáti Sarolta) támogatta.

Szerzői munkamegosztás: Sz. B.: A kézirat megszövegezése. S. P., F. M., K. S., M. B., N. K.: Szakmai és kritikai javaslataikkal járultak hozzá a kézirat megalkotásához. A kézirat végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Irodalom

- [1] Skin cancer – melanoma. American Cancer Society. <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma>
- [2] Balch, C. M., Soong, S. J., Gershenwald, J. E., et al.: Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the

- American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J. Clin. Oncol.*, 2001, 19(16), 3622–3634.
- [3] Mitchel, D. L., Fernandez, A. A.: Different types of DNA damage play different roles in the etiology of sunlight-induced melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2011, 24(1), 119–124.
- [4] Platz, A., Egyhazi, S., Ringborg, U., et al.: Human cutaneous melanoma; a review of *NRAS* and *BRAF* mutation frequencies in relation to histogenetic subclass and body site. *Mol. Oncol.*, 2008, 1(4), 395–405.
- [5] Udayakumar, D., Mahato, B., Gabree, M., et al.: Genetic determinants of cutaneous melanoma predisposition. *Semin. Cutan. Med. Surg.*, 2010, 29(3), 190–195.
- [6] Taylor, N. J., Busam, K. J., From, L., et al.: Inherited variation at *MC1R* and histological characteristics of primary melanoma. *PLoS ONE*, 2015, 10(3), e0119920.
- [7] Zhou, L., Yang, K., Andl, T., et al.: Perspective of targeting cancer-associated fibroblasts in melanoma. *J. Cancer*, 2015, 6(8), 717–726.
- [8] Senft, D., Ronai, Z. A.: Immunogenic, cellular, and angiogenic drivers of tumor dormancy – a melanoma view. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2016, 29(1), 27–42.
- [9] Arkenau, H. T., Kefford, R., Long, G. V.: Targeting *BRAF* for patients with melanoma. *Br. J. Cancer*, 2011, 104(3), 392–398.
- [10] Puntervoll, H. E., Molven, A., Akseln, L. A.: Frequencies of *KIT* and *GNAQ* mutations in acral melanoma. *J. Cutan. Pathol.*, 2014, 41(11), 893–894.
- [11] 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(7), 730–737.
- [12] Visvader, J. E., Lindeman, G. J.: Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nat. Rev. Cancer*, 2008, 8(10), 755–768.
- [13] White, R. M., Zon, L. I.: Melanocytes in development, regeneration, and cancer. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(3), 242–252.
- [14] Frank, N. Y., Pendse, S. S., Lapchak, P. H., et al.: Regulation of progenitor cell fusion by ABCB5 P-glycoprotein, a novel human ATP-binding cassette transporter. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278(47), 47156–47165.
- [15] Cano, A., Pérez-Moreno, M. A., Rodrigo, I., et al.: The transcription factor Snail controls epithelial–mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat. Cell Biol.*, 2000, 2(2), 76–83.
- [16] Mort, R. L., Jackson, I. J., Patton, E. E.: The melanocyte lineage in development and disease. *Development*, 2015, 142(4), 620–632.
- [17] Lang, D., Lu, M. M., Huang, L., et al.: Pax3 functions at a nodal point in melanocyte stem cell differentiation. *Nature*, 2005, 433(7028), 884–887.
- [18] Wehrle-Haller, B., Weston, J. A.: Soluble and cell-bound forms of steel factor activity play distinct roles in melanocyte precursor dispersal and survival on the lateral neural crest migration pathway. *Development*, 1995, 121(3), 731–742.
- [19] Kumano, K., Masuda, S., Sata, M., et al.: Both Notch1 and Notch2 contribute to the regulation of melanocyte homeostasis. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2008, 21(1), 70–78.
- [20] Nishimura, E. K., Suzuki, M., Igras, V., et al.: Key roles for transforming growth factor beta in melanocyte stem cell maintenance. *Cell Stem Cell*, 2010, 6(2), 130–140.
- [21] Ranson, M., Posen, S., Mason, R. S.: Extracellular matrix modulates the function of human melanocytes but not melanoma cells. *J. Cell. Physiol.*, 1988, 136(2), 281–288.
- [22] Gostyński, A., Pasmooij, A. M., Del Rio, M., et al.: Pigmentation and melanocyte supply to the epidermis depend on type XVII collagen. *Exp. Dermatol.*, 2014, 23(2), 130–132.
- [23] Quail, D. F., Joyce, J. A.: Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat. Med.*, 2013, 19(11), 1423–1437.

- [24] *Anderberg, C., Li, H., Fredriksson, L., et al.*: Paracrine signaling by platelet-derived growth factor-CC promotes tumor growth by recruitment of cancer-associated fibroblasts. *Cancer Res.*, 2009, 69(1), 369–378.
- [25] *Koenig, A., Mueller, C., Hasel, C., et al.*: Collagen type I induces disruption of E-cadherin-mediated cell-cell contacts and promotes proliferation of pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res.*, 2006, 66(9), 4662–4671.
- [26] *Kessenbrock, K., Plaks, V., Werb, Z.*: Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 2010, 141(1), 52–67.
- [27] *Kobie, J. J., Akporiaye, E. T.*: Immunosuppressive role of transforming growth factor beta in breast cancer. *Clin. Applied Immunol. Rev.*, 2003, 3(6), 277–287.
- [28] *Oshimori, N., Oristian, D., Fuchs, E.*: TGF- β promotes heterogeneity and drug resistance in squamous cell carcinoma. *Cell*, 2015, 160(5), 963–976.
- [29] *Javelaud, D., Alexaki, V. I., Mauviel, A.*: Transforming growth factor-beta in cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2008, 21(2), 123–132.
- [30] *Rothhammer, T., Bataille, F., Spruss, T., et al.*: Functional implication of BMP4 expression on angiogenesis in malignant melanoma. *Oncogene*, 2007, 26(28), 4158–4170.
- [31] *Seftor, E. A., Seftor, R. E., Weldon, D. S., et al.*: Melanoma tumor cell heterogeneity: a molecular approach to study subpopulations expressing the embryonic morphogen nodal. *Semin. Oncol.*, 2014, 41(2), 259–266.
- [32] *Seftor, R. E., Hess, A. R., Seftor, E. A., et al.*: Tumor cell vasculogenic mimicry: from controversy to therapeutic promise. *Am. J. Pathol.*, 2012, 181(4), 1115–1125.
- [33] *Hendrix, M. J., Seftor, E. A., Meltzer, P. S., et al.*: Expression and functional significance of VE-cadherin in aggressive human melanoma cells: Role in vasculogenic mimicry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2001, 98(14), 8018–8023.
- [34] *Stecca, B., Mas, C., Clement, V., et al.*: Melanomas require HEDGEHOG-GLI signaling regulated by interactions between GLI1 and the RAS-MEK/AKT pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2007, 104(14), 5895–5900.
- [35] *Sinnberg, T., Menzel, M., Ewerth, D., et al.*: β -catenin signaling increases during melanoma progression and promotes tumor cell survival and chemoresistance. *PLoS ONE*, 2011, 6(8), e23429.
- [36] *Wang, E., Voiculescu, S., Le Poole, I. C., et al.*: Clonal persistence and evolution during a decade of recurrent melanoma. *J. Invest. Dermatol.*, 2006, 126(6), 1372–1377.
- [37] *Shakhova, O., Sommer, L.*: Testing the cancer stem cell hypothesis in melanoma: the clinics will tell. *Cancer Lett.*, 2013, 338(1), 74–81.
- [38] *Fang, D., Nguyen, T. K., Leishear, K., et al.*: A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res.*, 2005, 65(20), 9328–9337.
- [39] *Schmidt, P., Kopecky, C., Hombach, A., et al.*: Eradication of melanomas by targeted elimination of a minor subset of tumor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2011, 108(6), 2474–2479.
- [40] *Pinc, A., Somasundaram, R., Wagner, C., et al.*: Targeting CD20 in melanoma patients at high risk of disease recurrence. *Mol. Ther.*, 2012, 20(5), 1056–1062.
- [41] *Robey, R. W., Polgar, O., Deeken, J., et al.*: ABCG2: determining its relevance in clinical drug resistance. *Cancer Metastasis Rev.*, 2007, 26(1), 39–57.
- [42] *Schatton, T., Murphy, G. F., Frank, N. Y., et al.*: Identification of cells initiating human melanomas. *Nature*, 2008, 451(7176), 345–349.
- [43] *Rappa, G., Fodstad, O., Lorico, A.*: The stem cell-associated antigen CD133 (Prominin-1) is a molecular therapeutic target for metastatic melanoma. *Stem Cells*, 2008, 26(12), 3008–3017.
- [44] *Civenni, G., Walter, A., Kobert, N., et al.*: Human CD271-positive melanoma stem cells associated with metastasis establish tumor heterogeneity and long-term growth. *Cancer Res.*, 2011, 71(8), 3098–3109.
- [45] *Luo, Y., Dallaglio, K., Chen, Y., et al.*: ALDH1A isozymes are markers of human melanoma stem cells and potential therapeutic targets. *Stem Cells*, 2012, 30(10), 2100–2113.
- [46] *Roesch, A., Fukunaga-Kalabis, M., Schmidt, E. C., et al.*: A temporarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth. *Cell*, 2010, 141(4), 583–594.
- [47] *Quintana, E., Shackleton, M., Foster, H. R., et al.*: Phenotypic heterogeneity among tumorigenic melanoma cells from patients that is reversible and not hierarchically organized. *Cancer Cell*, 2010, 18(5), 510–523.
- [48] *Shakhova, O., Zingg, D., Schaefer, S. M., et al.*: Sox10 promotes the formation and maintenance of giant congenital naevi and melanoma. *Nat. Cell Biol.*, 2012, 14(8), 882–890.
- [49] *Jandl, T., Revskaya, E., Jiang, Z., et al.*: Melanoma stem cells in experimental melanoma are killed by radioimmunotherapy. *Nucl. Med. Biol.*, 2013, 40(2), 177–181.

(Széky Balázs,
Budapest, Hermina út 27., 1146
e-mail: szekyb@gmail.com)