



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

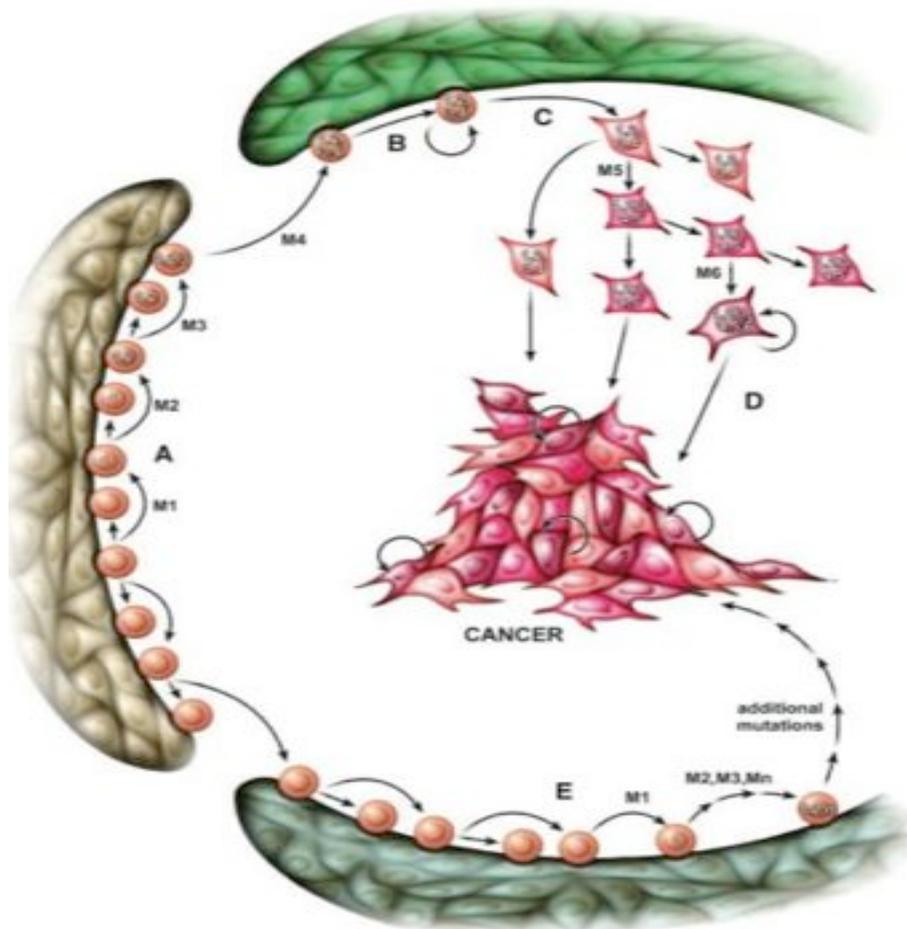
PROSPETTIVE CLINICHE NELLO STUDIO DELLE CELLULE STAMINALI TUMORALI

Monica Mangoni





Cellule Staminali Tumorali - CSCs

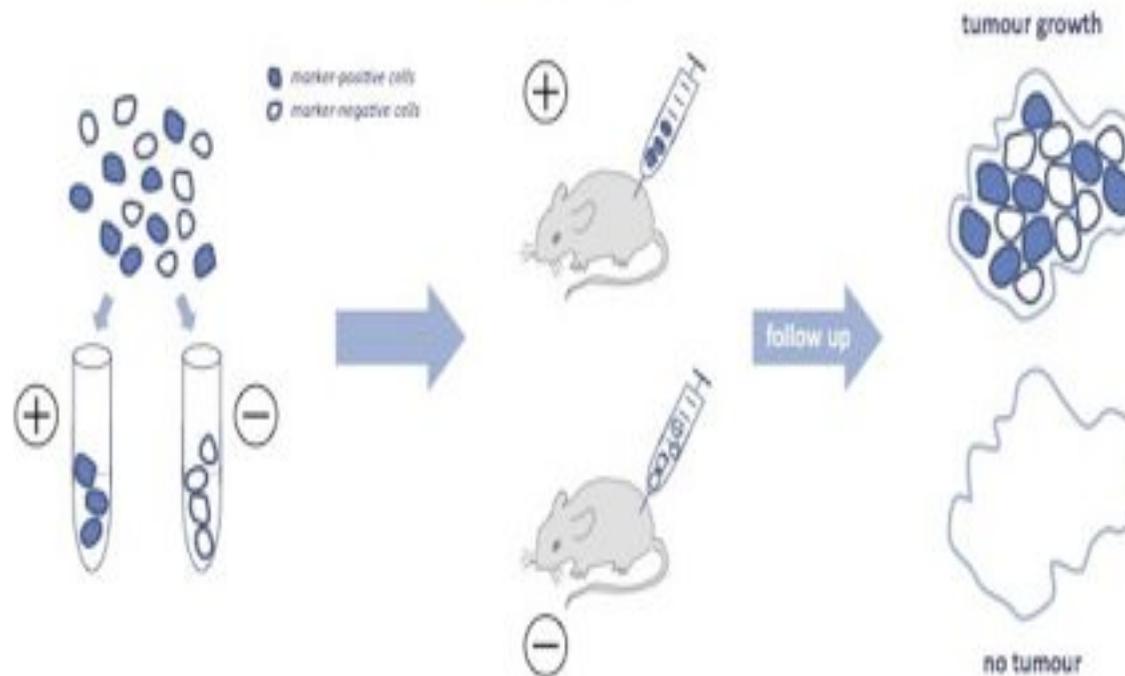


- Dick JE (Nature 1994): solo le cell AML CD34+CD38- potevano dare origine alla leucemia nel topo SCID
- Clarke MF (Cancer Res 2006): CSCs piccola sottopopolazione cell nel tumore con capacità di **autorinnovarsi** e di generare le **linee eterogenee** di cell che compongono il tumore
- Modello gerarchico (eterogeneo) vs modello stocastico (omogeneo)
- **Non proliferanti** o in **lenta divisione**



Individuazione delle CSCs

Studi funzionali: TD50 in studi di xenograft o induzione di metastasi

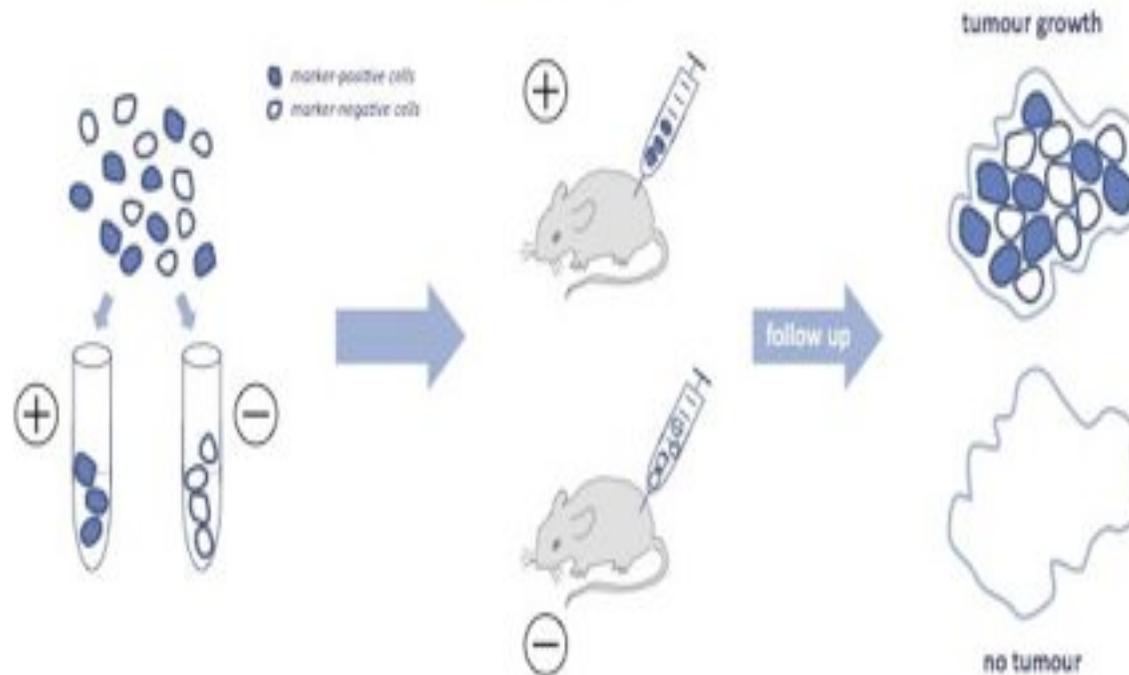


Citometria a flusso e immunoistochimica per markers di superficie



Individuazione delle CSCs

Studi funzionali: TD50 in studi di xenograft o induzione di metastasi

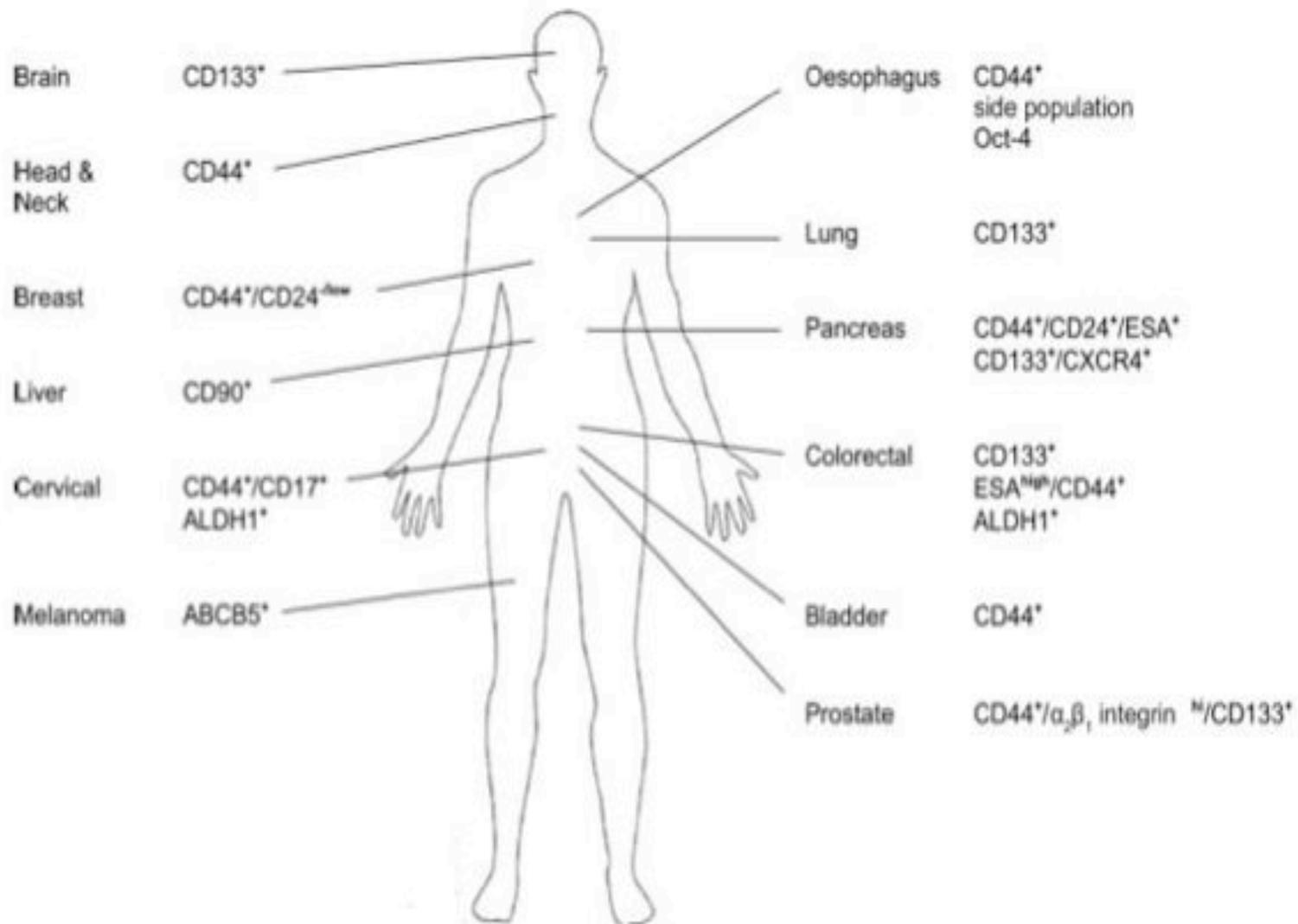


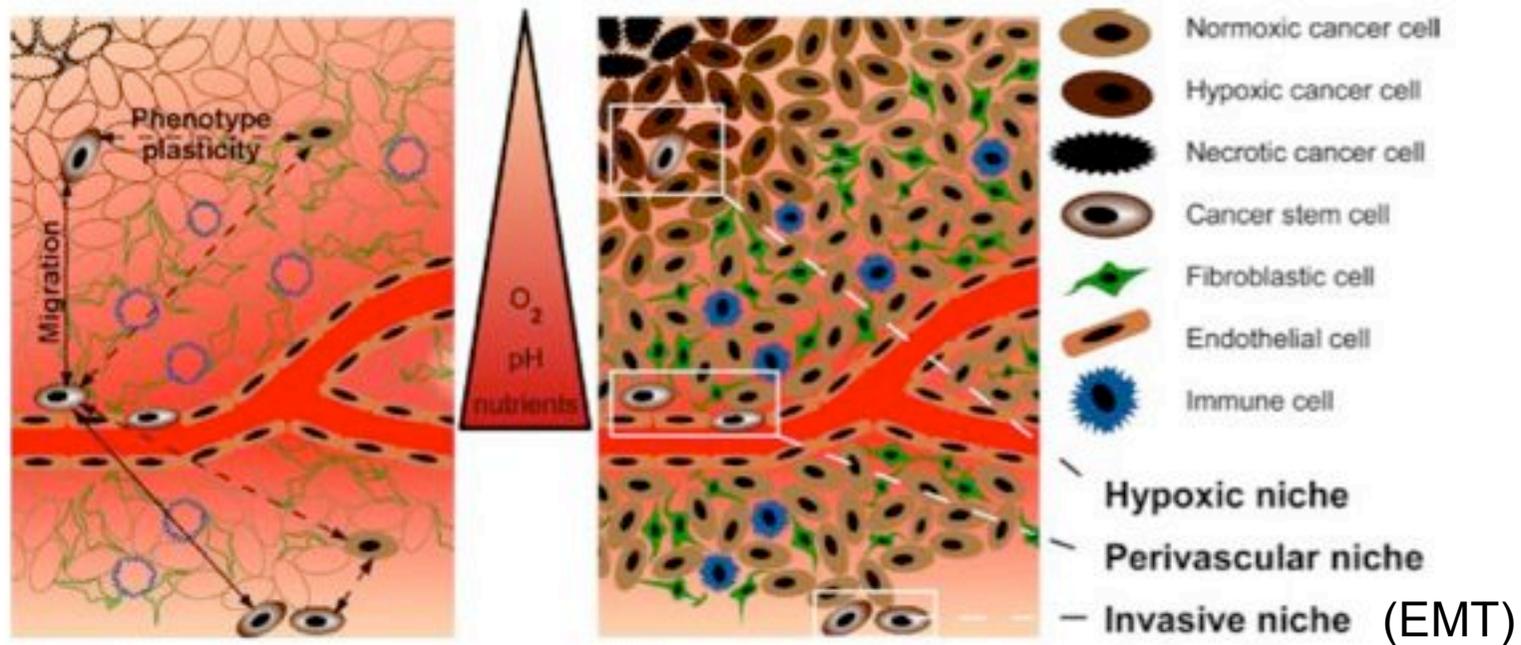
Citometria a flusso e immunoistochimica per markers di superficie

Markers +: accumula CSCs ma non sempre identifica le singole CSCs



CSCs e biomarkers



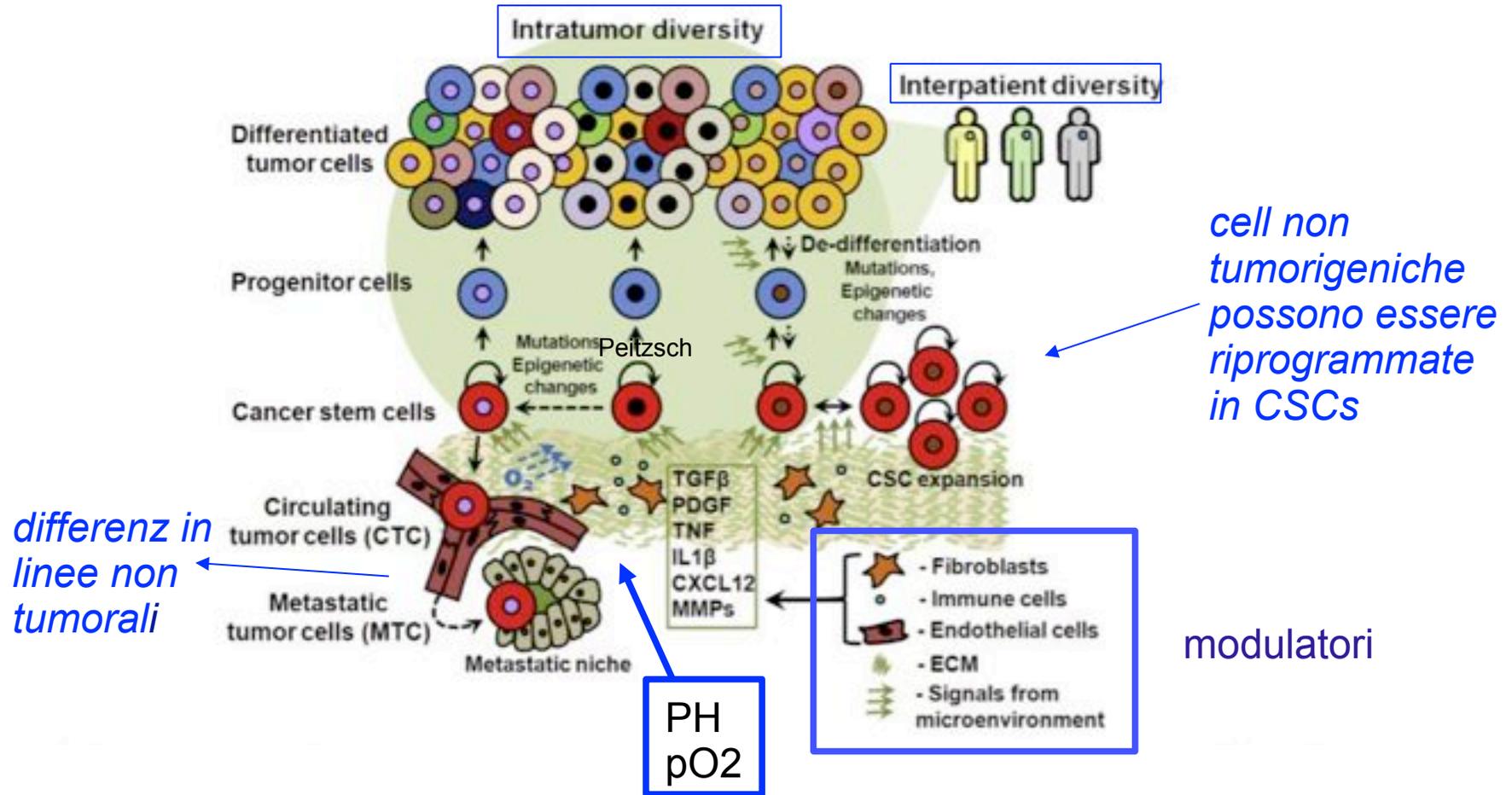


Nicchie: unità dinamiche che regolano il bilancio fra l'omeostasi del pool delle CSCs e l'induzione della proliferazione e dei processi di differenziazione



CSCs e microambiente

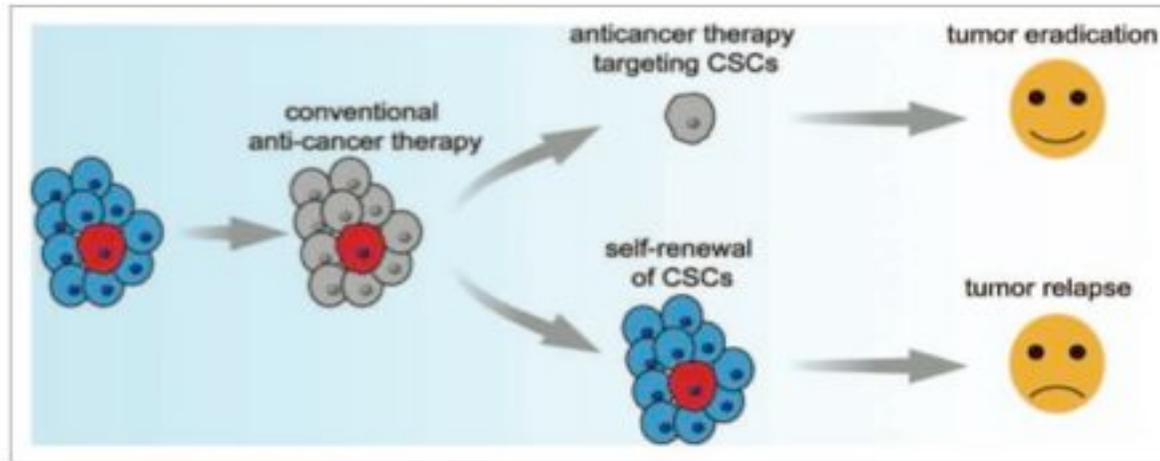
Il microambiente determina le proprietà fenotipiche e funzionali delle CSCs



CSCs contribuiscono alla plasticità del microambiente con fatt di crescita e chemochine



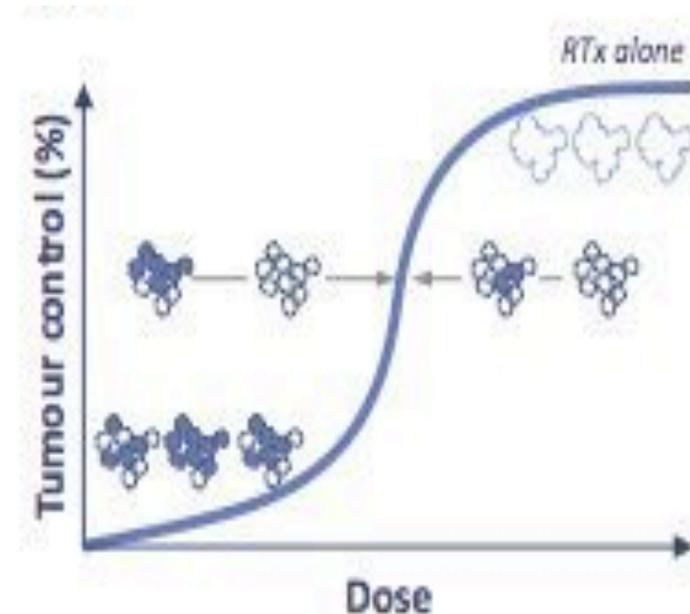
Resistenza a Radioterapia e Chemioterapia



Tumor control probability: sigmoide
= uccisione esponenziale CSCs

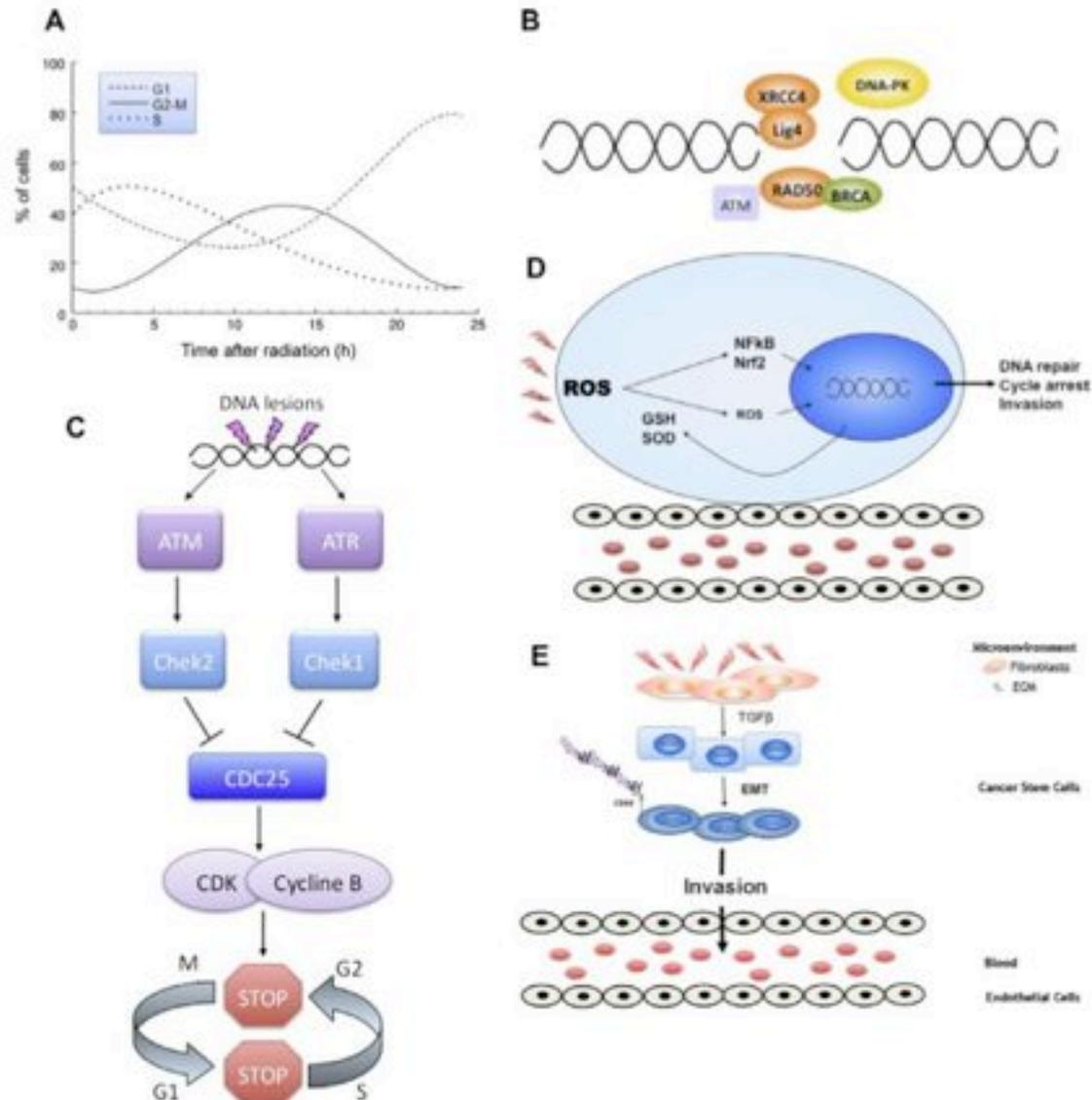
Il numero di CSCs correla linearmente
con il volume tumorale

Studi radiobiologici e clinici:
endpoint controllo tumorale locale
>>> endpoints correlati al volume
(regressione tumorale e ritardo di crescita)





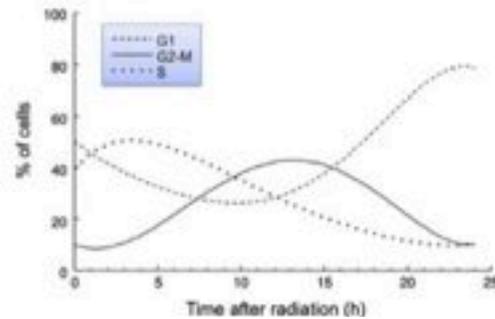
Meccanismi di radioresistenza



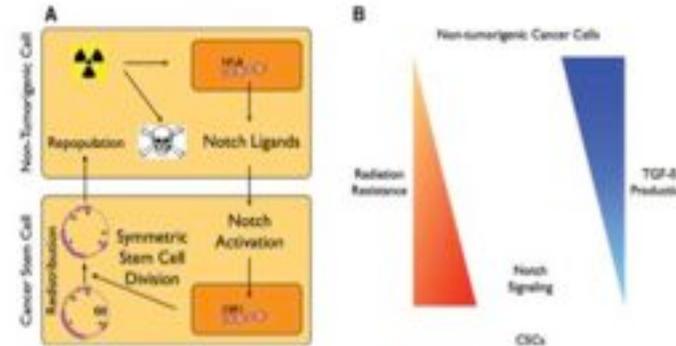


Meccanismi di radioresistenza

RIDISTRIBUZIONE e RIPOPOLAMENTO



CSCs quiescenti nelle nicchie ipossiche



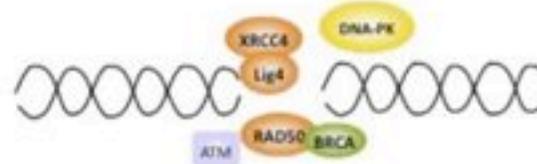
RT attiva Notch con divisione simmetrica

Il frazionamento con riossigenazione può ridistribuire CSCs e attivare proliferazione



Meccanismi di radioresistenza

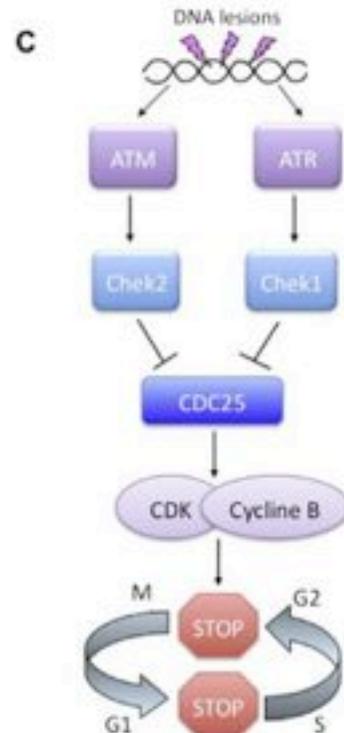
↑ RIPARAZIONE DEL DNA



↑ attivazione di ATM



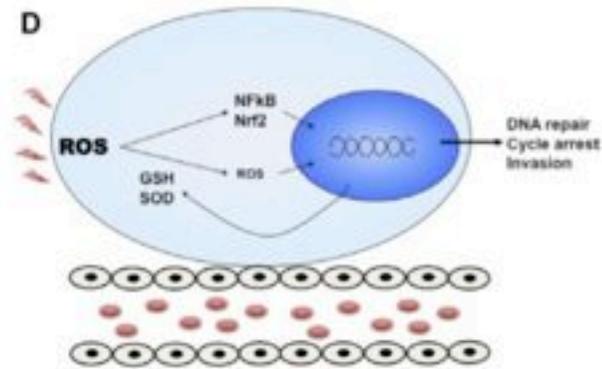
UPREGOLAZIONE DEI MECCANISMI DI CONTROLLO DEL CICLO CELL



↑ attivazione delle checkpoint chinasi 1 e 2



ROS e SCAVANGERS DEI RAD LIBERI



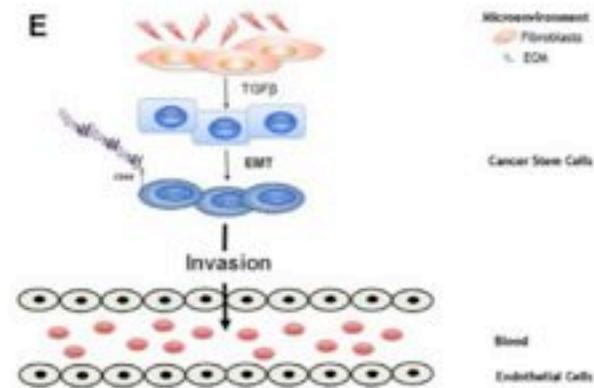
nelle nicchie perivascolari
alta attività di SOD e GSH



Meccanismi di radioresistenza

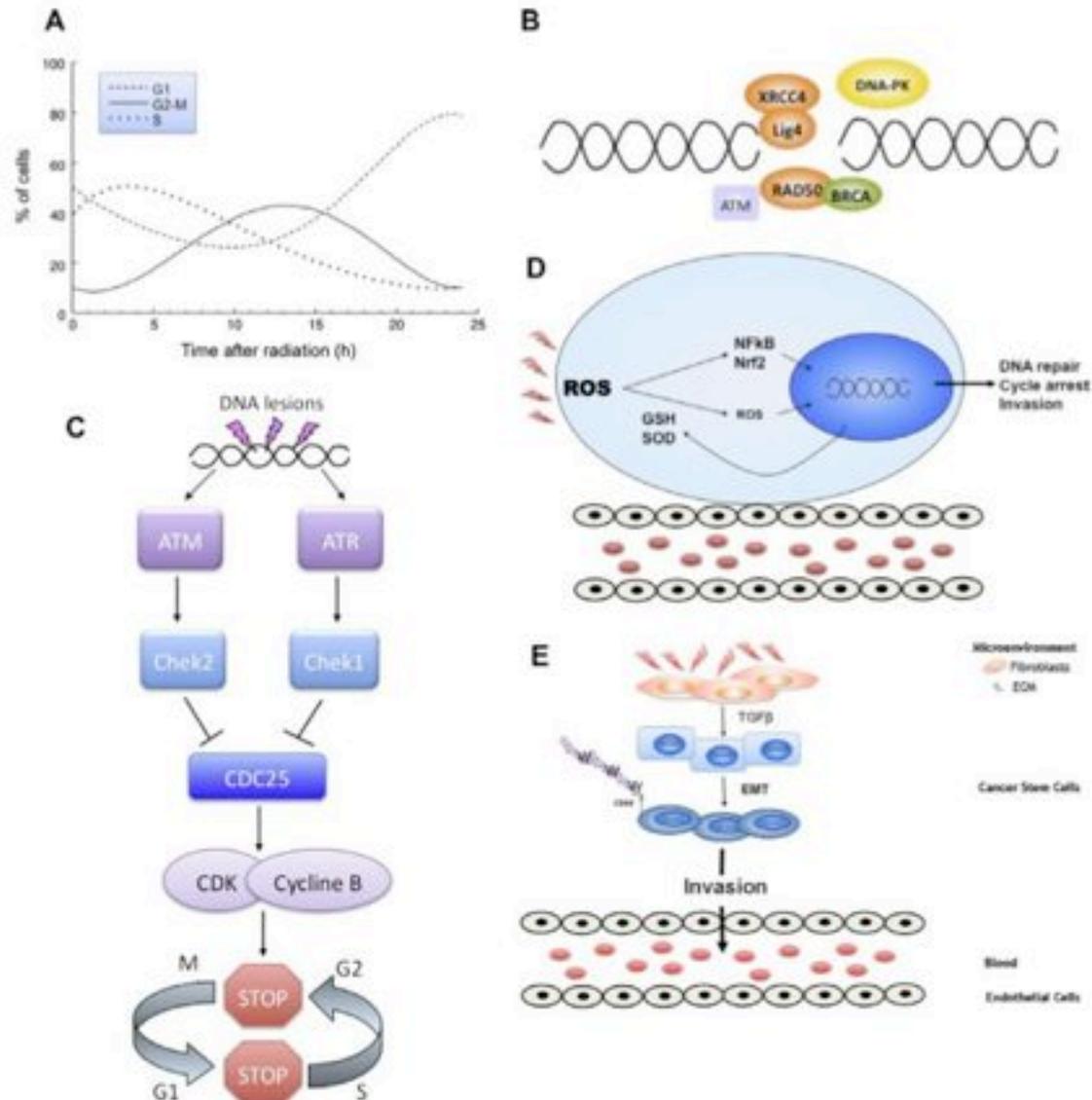
EMT

favorita da \uparrow TGF β indotto da RT



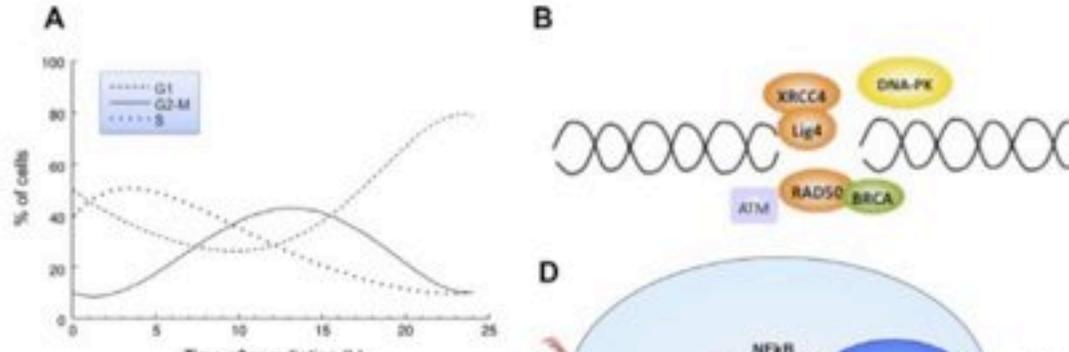


Meccanismi di radioresistenza





Meccanismi di radioresistenza



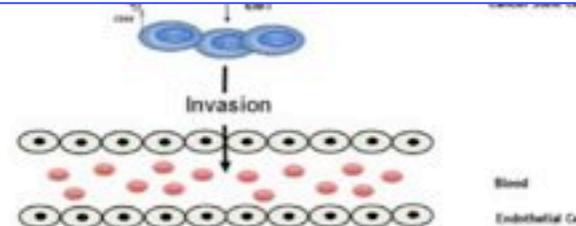
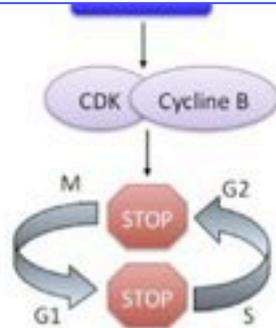
Frazionamento:



Possibili vantaggi per reclutamento CSCs nel pool proliferante



Se la dose per frazione è insufficiente la densità di CSCs può aumentare nel corso di trattamento





Biomarkers di staminalità e outcome dopo RT

Clinical studies investigating the correlation between CSC markers and the outcome of radiotherapy.

Entity	Marker	Outcome	Prognostic correlation	Author
Glioblastoma				
n = 88	CD133CD15 Nestin	Overall survival	–	Kim et al. [32]
n = 80	CD133	Progression-free survival		
n = 44	CD133	Overall survival	+	Murat et al. [33]
		Overall survival	+	Pallini et al. [34]
		Progression-free survival		
n = 48	CD133	Overall survival	+	Metellus et al. [118]
		Progression-free survival		
HNSCC				
n = 52	CD44	Local tumour control	+	de Jong et al. [35]
n = 74	CD44 Integrin-β1	Local-progression-free survival	+	Koukourakis et al. [36]
		Metastases-free survival		
		Overall survival		
Esophageal cancer				
n = 24	CD44+/ CD24–	Pathological tumour response	+	Smit et al. [36]
Rectal cancer				
n = 73	CD133	Disease-free survival	+	Wang et al. [41]
		Overall survival		
n = 210	CD44v6	Disease-free survival	+	Avoranta et al. [119]
		Disease-specific survival		
n = 99	CD133	Disease-free survival	+	Sprenger et al. [40]
		Cancer-specific overall survival		
n = 52	CD133CD44	Disease-free survival	+	Kawamoto et al. [42]
Cervical cancer				
n = 73	CD24	Metastases-free survival	+	Kwon et al. [38]
		Locoregional failure rate	–	
n = 140	CD24	Metastases-free survival	+	Sung et al. [39]
		Locoregional failure-free survival		
		Overall survival		

Biomarkers surrogati di densità CSCs correlano con outcome dopo RT

Limiti: statistici/ endpoints



Associazioni Radio-Chemioterapiche

Trattamenti sequenziali:

- Aumentano mobilizzazione CSCs
(modelli murini CML: Ito K, Nature 2008)
- Migliorano il controllo a distanza
- Possono diminuire la radioresistenza
- Rischio di ripopolamento accelerato !!!

- ++ farmaci a bersaglio molecolare (associazioni) basati su biomarkers CSCs



Bioimaging ottico, MRI, PET:

- valutazione di densità e distribuzione spaziale CSCs

(Vlashi E, . J Natl Cancer Inst 2009)

- adaptive RT: \neq dose totale e durata RT sulla base della risposta precoce

(Duprez F, IJROBP 2011)

(Guckenberger M, IJROBP 2011)

- modificazione dello schema di trattamento chemioterapico neoadiuv / chirurgico

(Meyer zum Büschenfelde CM, J Nucl Med, 2011)

- integrazione CSCs nei criteri di risposta alle terapie



Volumi di trattamento

- CSCs fanno probabilmente parte del **fronte di invasione** dei tumori solidi:
 - importanti implicazioni per la distribuzione di dose ai margini del volume target

(Friedl P, Nat Cell Biol 2012)
- adeguata **dose alla nicchie**:
 - nel glioma maligno dose alla zona subventricolare (SVZ) correla con risposta

(Evers P, BMC Cancer 2010)
- CSCs quiescenti metabolizzano glucosio con **fosforilazione ossidativa** anziché glicolisi: 18 FDG-PET negativi !!!!

(De Berardinis RJ, Cell Metab 2008)
- tumori con **alta densità di CSCs**: possono beneficiare di schemi intensificati
- alto livello di **ipossia**: può beneficiare del frazionamento



Protoni e Ioni Carbonio

- Radiazioni ad alto LET vs fotoni: maggiore efficacia su CSCs:
 - ↓ espressione biomarkers
 - ↑ apoptosi
 - ↓ potenziale metastatico
 - ↑↑↑ ROS

(Cui X, Cancer Res 2011)

(Chang, JY, IJROBP 2010)



Conclusioni

La natura dinamica dei fattori determinanti la radioresistenza, la plasticità delle CSCs e l'eterogeneità rendono le CSCs un bersaglio difficile da trattare

La possibilità di monitorare le CSCs dal punto di vista fenotipico e funzionale in corso di trattamento è fondamentale per ottimizzare e personalizzare le terapie

Per migliorare l'efficacia del trattamento radioterapico sono necessari studi per caratterizzare le CSC in maniera più precisa