

Bedeutung der Tumorstammzellhypothese für das Verständnis des Ovarialkarzinoms

Zum Zeitpunkt der ersten, oft unspezifischen Beschwerden liegt bei Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom meist bereits ein fortgeschrittenes Stadium vor. Obwohl ca. 80% auf die primäre Chemotherapie ansprechen, kommt es bei 60–80% dieser Patientinnen zu einem Rezidiv [18]. Experimentelle Untersuchungen zeigen, dass nur ein kleiner Anteil der Tumorzellen, und zwar die sogenannten Tumorstammzellen, eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von Chemotherapieresistenz und Rezidiven spielen. Nachfolgend werden das Tumorstammzellmodell, Methoden der Selektion und Anreicherung von Tumorstammzellen und der aktuelle Stand der translationalen Forschung dargestellt.

Pathogenese des Ovarialkarzinoms

Ungeachtet eines in den letzten Jahren signifikanten Erkenntnisgewinns zur Ätiologie und Pathogenese des Ovarialkarzinoms bleiben noch viele Fragen offen. Neben einer auf adulten Stammzellen basierenden Hypothese werden noch weitere, sich z. T. gegenseitig beeinflussende Theorien diskutiert, die im Zusammenhang mit der Ovulation, den Einflüssen von Hormonen (Gonadotropine, Östrogene und Androgene), aber auch Entzündungen bzw. Infektionen stehen.

Etwas genauer ist das Wissen über die möglichen Ursprungszellen bzw. speziell den Ort der Tumorbildung.

Gewebespezifische Stammzellen sind für den Erhalt der Gewebekompostase und für Reparaturvorgänge unentbehrlich [8], wobei insbesondere das Ovar durch den ovariellen Zyklus ständig Veränderungen unterliegt. Der Charakter dieser gewebespezifischen Stammzellen wurde in vielen Geweben wie beispielsweise im Magen, Darm und Gehirn umfangreich untersucht [8, 38]. Zum Ovar existieren bisher nur sehr wenige Untersuchungen, die eine Subpopulation von Stamm- bzw. Progenitorzellen im ovariellen Oberflächenepithel („ovarian surface epithelium“, OSE) nachgewiesen haben [14, 39]. Eine weitere Art im Ovar ansässiger Stammzellen sind die Keimlinienstammzellen. Diese sind in der Lage, postnatal nicht nur unreife Oozyten, sondern auch neue fertilisierungs-kompetente Oozyten, sogar mit Nachkommen, hervorzubringen [47]. Dies wurde durch Transplantationsuntersuchungen an Mäusen gezeigt und stellt das Dogma einer bei Geburt fixierten maximalen Anzahl an Keimzellen bei Säugtieren infrage.

Ovar als Ausgangsort der Karzinomentwicklung

Im Mittelpunkt der Diskussion über die möglichen Ursprungszellen eines Ovarialkarzinoms steht zunächst die Frage

nach der Herkunft des Epithels in den ovariellen Inklusionszysten als einem wahrscheinlichen Ausgangsort der Karzinomentwicklung, da klinisch ein Teil der Tumoren als ovarielle Zysten ohne extraovarielle Herde vorliegt. Im Rahmen von Ovulationen oder auch anderen Prozessen wie beispielsweise Entzündungen kommt es zum Aufbrechen der Ovaroberfläche mit Invagination von OSE und/oder normalem Tubenepithel der eng benachbarten Fimbrien. Diese Zellversprengung von Tubenepithel ist nicht ungewöhnlich, ebenso wie auch eine Implantation auf dem Peritoneum oder in Lymphknoten auftreten kann (Endosalpingiose). Die Auskleidung der Inklusionszysten kann so morphologisch entweder flachen bis kubischen Mesothelzellen oder hochprismatischem Flimmerepithel (sekretorische und zilientragende Zellen) entsprechen (■ Abb. 1; [42]).

Eine Differenzierung des mesothelialen oder des häufigeren tubaren Phänotyps ist prinzipiell mittels Calretinin und PAX8 immunhistochemisch möglich, wobei man jedoch davon ausgehen muss, dass durch metaplastische Veränderungen, bedingt durch Einflüsse der stromalen Mikroumgebung, das inkludierte OSE auch den Marker des tubaren Phänotyps exprimieren kann [4]. Die Fähigkeit zur Metaplasie einer Zelle setzt Stammzell-

Die Autoren R. Vochem und J. Eienkel haben zu gleichen Teilen zu dieser Arbeit beigetragen.

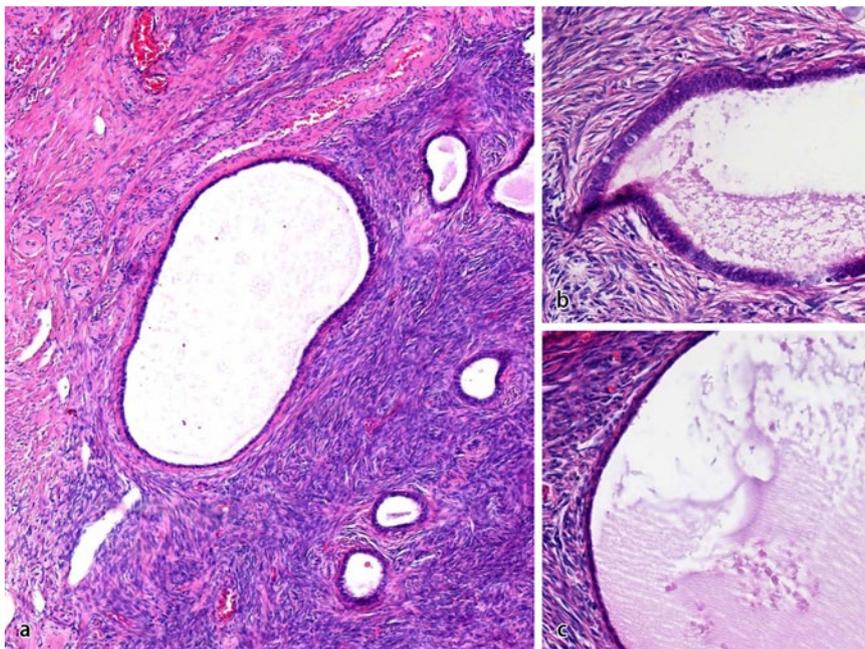


Abb. 1 ▲ Kortikale Inklusionszysten. **a** Übersichtsvergrößerung sog. kortikaler Inklusionszysten in der ovariellen Rinde mit unterschiedlicher Lumenweite. **b** Stärkere Vergrößerung mit einem nichtpolymorphen, an Tubenepithel erinnernden Zylinderepithel mit mehrheitlich zilienträgenden Zellen und einzelnen sog. sekretorischen Zellen. **c** Kortikale Inklusionszyste mit flacher, an Mesothel erinnernder Auskleidung

eigenschaften, einschließlich der Pluripotenz, voraus [4]. Vergleichende Analysen der Genexpressionsprofile von Zellen des Oberflächenepithels unauffälliger Ovarien und von serös-papillären Adenokarzinomen von jeweils 12 Patientinnen ergaben über 2000 signifikant differenziell exprimierte Gene, die einer Vielzahl von molekularen Signalwegen zugeordnet werden konnten [11].

Das OSE zeigte eine hohe Expression von Genen (TGFB/BMP, TGFBR, Antagonisten für WNT und Hedgehog), die in Prozesse involviert sind, welche Stammzellen im Stadium der Quieszenz halten (OSE als interovulatorische Stammzellnische). Immunhistochemische Untersuchungen unauffälliger Fimbrien und Ovarien (jeweils n=21) mit den Stammzellmarkern NANOG, SFRP1, LHX9, ALDH1A1 und ALDH1A2 lassen die Schlussfolgerung zu, dass sowohl das ovarielle als auch das tubare Epithel das Potenzial für eine maligne Transformation haben und liefern eine Erklärung für die charakteristische Lokalisation der tubaren Vorläuferläsionen im distalen Teil der Fimbrien [5]. Andere Untersuchungen mit den Markern LHX2 und LHX9 festigen die Annahme, dass asymmetri-

sche Zellteilung im OSE stattfindet [11]. Neben den Genexpressionsuntersuchungen unterstützt außerdem die gleiche embryologische Herkunft des OSE sowie der Müller-Gänge aus dem Zölomepithel die Möglichkeit einer Müller-artigen Differenzierung der ovariellen Zellen und damit die Fähigkeit zur Ausbildung der verschiedenen Tumorsubtypen (serös, endometrioid, muzinös [4]).

In Zellkulturuntersuchungen humaner OSE konnte eine Transformation in hochinvasive Neoplasien, welche undifferenzierten „high grade“ und „low grade“ ovariellen Karzinomen glichen (nie jedoch Mesotheliomen), induziert werden [4]. Das OSE hat demnach prinzipiell das Potenzial zur Tumorbildung, bevorzugt innerhalb der Inklusionszysten, auch wenn bisher der Nachweis von Vorläuferläsionen nur in wenigen Ausnahmefällen gelang [30, 33].

Tuben als Ursprungsort der Tumorbildung

Für die Tuben als möglichen Ursprungsort der Tumorbildung sind die Ergebnisse morphologischer Untersuchungen entscheidend, die insbesondere an prophyl-

aktischen Salpingoophorektomiepräparaten bei Patientinnen mit genetischer Prädisposition durchgeführt wurden. Entsprechend dem dualistischen Modell der Pathogenese des Ovarialkarzinoms werden nach morphologischen, molekularbiologischen und klinischen Merkmalen die Typen I und II unterschieden. Für die Mehrheit der „high grade“ serösen Ovarialkarzinome des Typs II geht man sicher davon aus, dass sie aus eindeutigen Vorläuferläsionen in den Tuben, und dort insbesondere im Fimbrientrichter, hervorgehen („serous tubal intraepithelial carcinoma“, STIC, und deren Vorläufer p53-Signatur und „serous tubal intraepithelial lesion“, STIL [19]). Bei der weiteren STIC-Progression invadieren die Zellen das Tubenstroma oder werden abgetragen und gelangen auf die Ovaroberfläche und das Peritoneum oder auch in den Uterus und entwickeln sich zu „high grade“ serösen Karzinomen.

Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass auch Ovarialkarzinome vom Typ I („low grade“ serös) und deren Vorläuferläsionen wie Borderlinetumoren möglicherweise von einer primären Läsion der Tubenmukosa, einer papillären tubaren Hyperplasie („papillary tubal hyperplasia“, PTH), ausgehen und diese dann sekundär Ovar und Peritoneum befällt (■ **Abb. 2**; [20, 42]).

Für den endometrioiden und klarzelligen Subtyp des Ovarialkarzinoms existieren epidemiologische, histopathologische und molekularbiologische Studienergebnisse, die einen Ursprung in Endometrioseherden nahelegen [23]. Diese Erkenntnisse zeigen zusammenfassend, dass Gewebestammzellen bei der Tumorentstehung eine Rolle spielen und Ovarialkarzinome im sogenannten Müller-Epithel und seltener auch im OSE ihren Gewebeerstamm haben.

Historischer Hintergrund

Basierend auf den Erkenntnissen der hämatopoetischen Zelldifferenzierung entstanden die ersten Arbeiten zu Tumorstammzellen („cancer stem cells“, CSC) in der Hämatonkologie. Zuerst zeigten Lapidot et al. [21] und danach Bonnet u. Dick [10], dass die Fähigkeit, humane Leukämien auf immunodefiziente Mäuse („nonobese diabetic/severe com-

bined immunodeficient“; NOD/SCID) zu übertragen, einer kleinen Population von Tumorzellen vorbehalten ist, die wie somatische Stammzellen CD34⁺/CD38⁻ exprimieren. Diese Zellen bildeten eine Fraktion von nur <1/10.000 Leukämiezellen, wogegen vielfach höhere Zahlen von Zellen anderen Phänotyps nicht tumorigen waren [10].

Ein weiterer Meilenstein gelang Al-Hajj et al. [2] mit dem erstmaligen Nachweis einer CD44⁺/CD24^{-low} Lineage⁻-Zellpopulation bei einem soliden Tumor, dem Mammakarzinom. Schon 100 dieser Zellen, die insgesamt 1–10% der Gesamtzellpopulation ausmachten, konnten in einer NOD/SCID-Maus ein Mammakarzinom hervorrufen, wogegen mehrere 10.000 Zellen ohne diese Oberflächenmerkmale nicht zu einem Tumorzellwachstum führten.

Die erste Arbeit zur Isolierung und Identifizierung von CSC beim Ovarialkarzinom wurde 2005 publiziert. Bapat et al. [6] identifizierten Zellklone mit Stammzelleigenschaften im Aszites einer Patientin mit einem serösen Ovarialkarzinom im Stadium FIGO IV mittels Sphäroidassay und bewies die Tumorigenität durch Xenotransplantation. Bereits ein Jahr später wiesen Szotek et al. [40] in ovariellen Tumorzelllinien von Mäusen mit dem DNA-bindenden Fluoreszenzfarbstoff Hoechst 33342 eine Subpopulation von Tumorzellen nach, die Eigenschaften von CSC besitzen. Diese Zellen der sogenannten „side population“ führten nach Injektion in das Fettgewebe einer thymusaplastischen Maus schneller als solche, die nicht als „side population“ eingestuft wurden, zu messbarem Tumorzellwachstum. Die Isolierung und Charakterisierung von Tumorzellen mit Stammzelleigenschaften aus einer humanen ovariellen Tumorzelllinie gelang Wang et al. [44] mithilfe des Wachstums in multizellulären Sphäroiden. An diesen Zellen erfolgte auch eine erste klinische Anwendung mit Testung der am häufigsten beim Ovarialkarzinom verwendeten Chemotherapeutika.

Die unterschiedliche Nomenklatur auf diesem Gebiet kann zu Verwirrung führen. Zellen wurden häufig nach ihrer Funktion benannt (z. B. tumorinitiierende oder -propagierende Zellen, stammzellähnliche Zellen, therapieresistente

Pathologe 2014 · 35:361–370 DOI 10.1007/s00292-014-1910-6
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

R. Vochem · J. Einenkel · L.-C. Horn · P. Ruschpler

Bedeutung der Tumorstammzellhypothese für das Verständnis des Ovarialkarzinoms

Zusammenfassung

Hintergrund. Das Ovarialkarzinom hat trotz komplexer operativer und systemischer Therapie eine schlechte Prognose. Verantwortlich für die Entwicklung von Chemotherapieresistenzen und die hohe Rezidivrate wird eine kleine Anzahl tumorigener Zellen gemacht, die als Tumorstammzellen („cancer stem cells“, CSC) bezeichnet werden.

Fragestellung. Dieser Reviewartikel stellt die Tumorstammzellhypothese vor und beschreibt Methoden der Identifizierung und Anreicherung von CSC sowie Ansätze zur therapeutischen Nutzung dieser Erkenntnisse.

Material und Methode. Systematische Literaturrecherche basierend auf PubMed und Web of Science.

Ergebnisse. Das Tumorstammzellmodell geht von einer hierarchischen Tumorstruktur aus, wobei neben wenigen CSC unterschiedlich differenzierte Tumorzellen, welche die Haupttumormasse bilden, vorhanden sind. Nur die CSC haben tumorigenes Potenzial. Andere entscheidende funktionelle Merkmale der CSC sind ihr Potenzial zur Selbsterneuerung und ihre Fähigkeit zur Differen-

zierung in weitere Zelltypen. Strukturell sind die CSC durch verschiedene Oberflächenmerkmale und Veränderungen in bestimmten Signalwegen charakterisiert. Aktuell laufen Phase-I/II-Studien zur spezifischen Beeinflussung von CSC.

Schlussfolgerung. Viele klinische Charakteristika des Krankheitsverlaufs beim Ovarialkarzinom lassen sich gut anhand des Tumorstammzellmodells darstellen. Trotz klar definierter funktioneller CSC-Eigenschaften zeigen die äußeren und inneren strukturellen Merkmale individuelle und entitätsspezifische Unterschiede. Dies erschwert die Identifizierung und Anreicherung. Erste experimentelle Ergebnisse mit vielfältigen Ansätzen und sogar erste klinische Studien machen Hoffnung auf eine personalisierte, auf CSC ausgerichtete Krebstherapie.

Schlüsselwörter

Tumorigene Zellen · Hierarchische Tumorstruktur · Chemotherapieresistenz · Rezidiv · Selbsterneuerungspotenzial

Importance of the tumor stem cell hypothesis for understanding ovarian cancer

Abstract

Background. Despite complex surgical and systemic therapies epithelial ovarian cancer has a poor prognosis. A small quantity of tumorigenic cells termed cancer stem cells (CSC) are responsible for the development of chemoresistance and high rates of recurrence.

Objectives. This review presents the CSC hypothesis and describes methods of identification and enrichment of CSCs as well as approaches for the therapeutic use of these findings.

Material and methods. A systematic literature review based on PubMed and Web of Science was carried out.

Results. The CSC model is based on a hierarchical structure of tumors with few CSCs and variably differentiated tumor cells constituting the tumor bulk. Only the CSCs possess tumorigenic potential. Other essential functional characteristics of CSCs are their potential for self-renewal and their ability to differentiate into further cell types. The CSCs are

structurally characterized by different surface markers and changes in certain signaling pathways. Currently there are phase I and II studies in progress investigating specific influences on CSCs.

Conclusion. Various clinical characteristics of the course of disease in ovarian cancer are aptly represented by the tumor stem cell model. In spite of precisely defined functional characteristics of CSCs, surface markers and signaling pathways show individual differences and vary between tumor entities. This complicates identification and enrichment. Current experimental findings in various approaches and even first clinical studies raise hopes for a personalized cancer therapy targeting CSCs.

Keywords

Tumorigenic cells · Hierarchical tumor structure · Chemotherapy resistance · Recurrence · Self-renewal potential

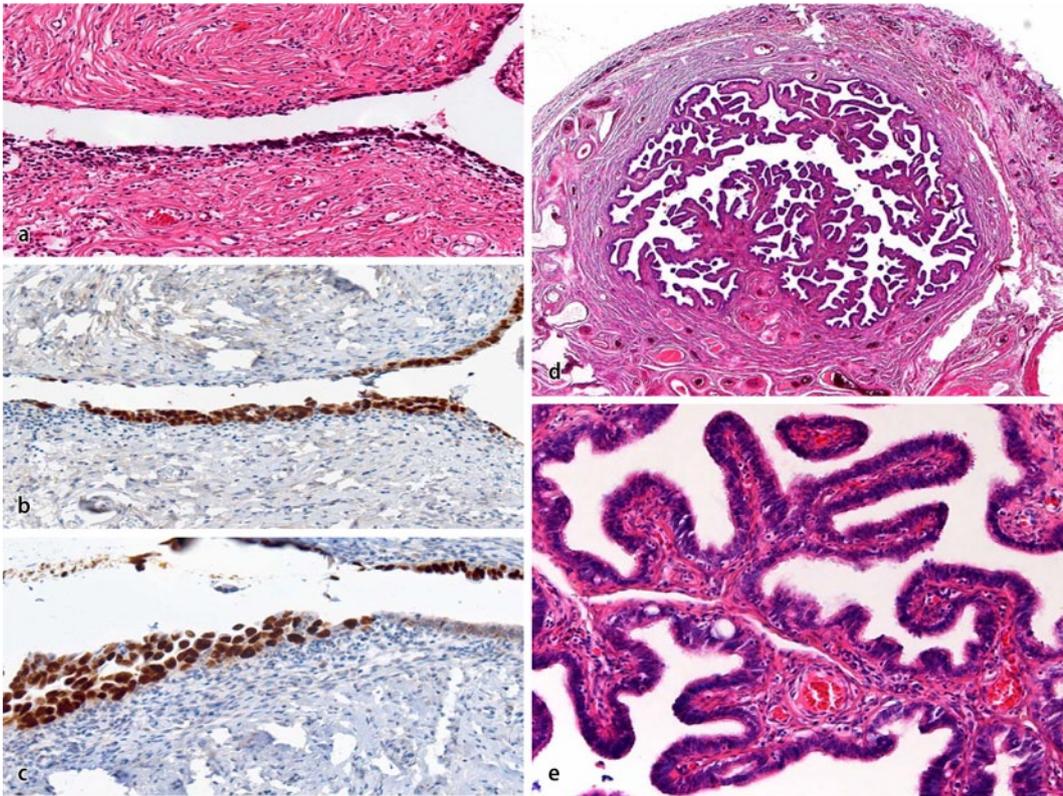


Abb. 2 ◀ Tubare Vorläuferläsionen des serösen Ovarialkarzinoms. **a–c** Seröses In-situ-Karzinom der Tube (STIC) mit Ersatz des normalen Tubenepithels durch ein polymorphes, hyperchromatisches seröses Epithel (**a**) mit starker proliferativer Aktivität (**b**, Ki-67) und starker diffuser Färbung gegenüber p53 (**c**). **d, e** Papilläre tubare Hyperplasie (PTH): fein aufgegliederte Tubenschleimhaut mit zahlreichen papillären Formationen (**d**), filigran gegliederte Schleimhaut mit isoliert im Lumen liegender Papille (**e**). STIC, „serous tubal intraepithelial carcinoma“

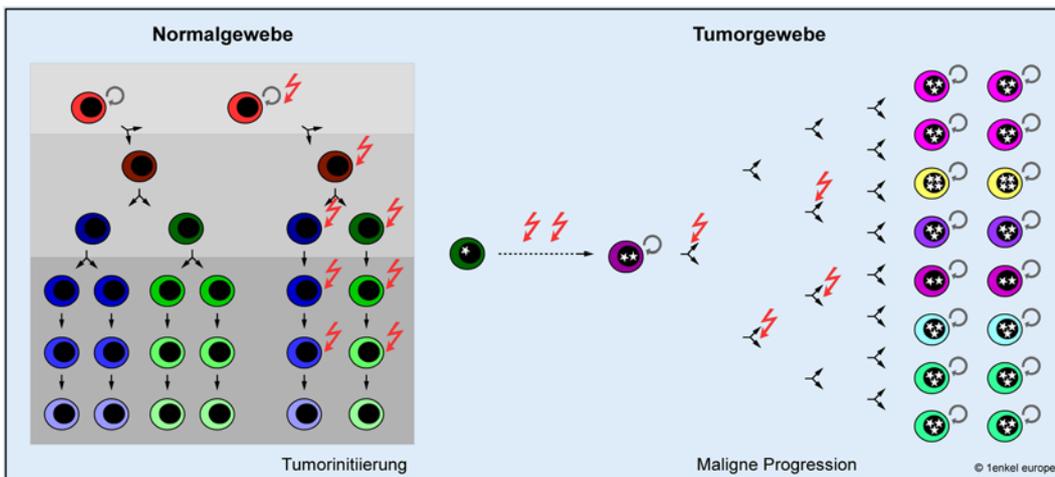


Abb. 3 ▲ Stochastisches Modell. Das Mehrstufenmodell der Karzinogenese geht von einer sequenziellen Akkumulation einer Kombination kritischer Mutationen (*rote Pfeile*) aus, wobei initial prinzipiell alle Zellen eines differenzierten Gewebes ganz zufällig Ausgangspunkt sein können. Durch einen natürlichen Selektionsprozess, bei dem nur die überlebensfähigsten Zellen einen Wachstumsvorteil erfahren, kommt es zum Erwerb tumorigener Eigenschaften (Fähigkeiten zur Tumorbildung) und damit der Generierung der eigentlichen Tumorzellen mit der Eigenschaft zur Selbsterneuerung (*kreisförmiger Pfeil*). Phänotypisch zeigen die Tumorzellen beispielsweise eine zunehmende Dedifferenzierung (durch Änderung der Zellfarbe dargestellt). Die genetische Instabilität und die unkontrollierte Proliferation erlauben nun im Rahmen der malignen Progression die Addition zusätzlicher Mutationen mit weiterer Veränderung des Genoms und führen damit zur Ausbildung unterschiedlicher zellulärer Subklone mit speziellen Eigenschaften (Tumorheterogenität durch verschiedene Zellfarben und unterschiedliche Anzahl der Mutationen im Kern verdeutlicht)

Zellen), bis sich der übergreifende Terminus „Tumorstammzellen“ gegenüber den Einzelfunktionen beschreibenden Namen durchgesetzt hat. Aufgrund von Fortschritten im Bereich der Stammzell-

biologie und der Entwicklung neuer Tiermodelle hat die Tumorstammzellhypothese in den letzten Jahren starken Auftrieb erhalten.

Die Modelle der Karzinogenese

Zur Verdeutlichung der Karzinogenese werden hauptsächlich 2 Modelle diskutiert, welche die Tumorinitiierung, die

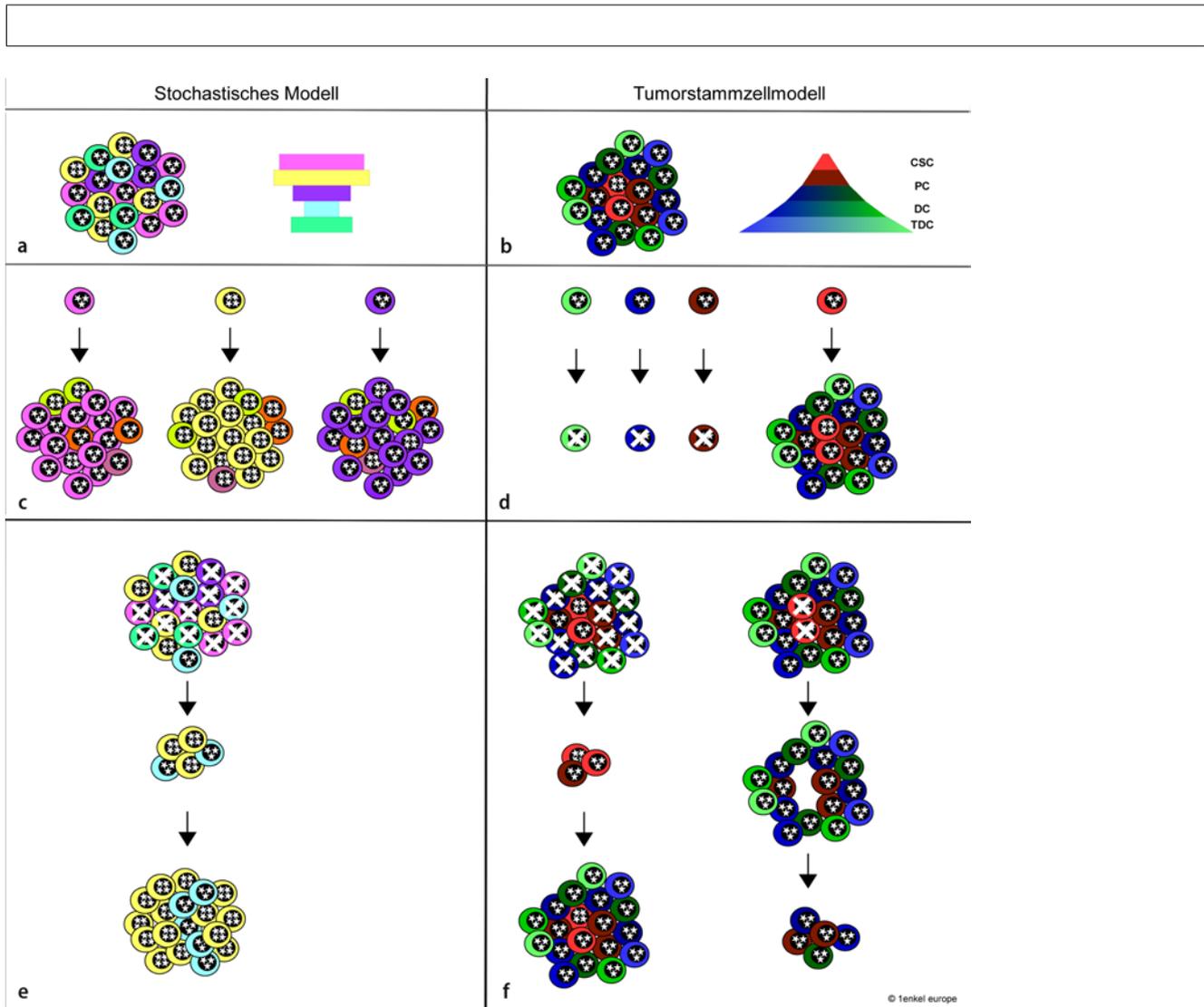


Abb. 4 ▲ Besonderheiten der Struktur von Primärtumor, Metastasen und Rezidiven nach beiden Modellen. **a, b** Primärtumorstruktur – beim stochastischen Modell (**a**) besteht der Tumor aus einer heterogenen Mischung aus unabhängigen Subklonen; beim Tumorstammzellmodell (**b**) ist die intratumorale Heterogenität hauptsächlich bedingt durch eine Zelldifferenzierung (Differenzierungshierarchie). **c, d** Ursprung und Struktur von Metastasen – nach dem stochastischen Modell (**c**) ist prinzipiell jede Tumorzelle zur Metastasierung fähig. Im hierarchischen Modell (**d**) besitzen nur die Tumorstammzellen (CSC) ein metastatisches Potenzial, während andere vom Primärtumor gelöste Zellen der Apoptose unterliegen (nichttumorigene Zellen). Die Struktur der korrespondierenden Metastasen zeigt dementsprechend einen deutlichen Unterschied zur Primärtumorstruktur (**c**) oder ist durch das gleiche Differenzierungsprogramm eher ähnlich (**d**). **e, f** Therapiebedingte Tumorveränderungen und Ursachen der Rezidivierung (ohne Berücksichtigung der Akkumulation weiterer Mutationen, die den Grad der genetischen Heterogenität erhöhen) – einige zelluläre Subpopulationen können durch die Ausbildung von Resistenzmechanismen eine Systemtherapie überleben und werden damit selektiert (**e**). Beim Tumorstammzellmodell weisen nur die CSC Resistenzmechanismen auf und können die aktuell eingesetzte Systemtherapie überstehen (**f links**). Der Rezidivtumor gleicht dem Primärtumor. Ziel aktueller Forschungen ist es, selektive Therapieformen gegen die CSC zu etablieren, die dann zu einer konsekutiven Reduktion der anderen Tumorzellen führen oder mit einer herkömmlichen Therapie kombiniert werden können (**f rechts**)

heterogene Struktur und die Merkmale der malignen Progression auf der Basis verschiedener Zelltypen erklären. Die Mutationshypothese führte zunächst zur Entwicklung des *stochastischen Tumormodells*. Dieses Modell besagt, dass ein maligner Tumor seinen Ausgang in prinzipiell jeder Zelle eines Gewebes nehmen kann. Durch eine Akkumulation kritischer Mu-

tationen entsteht der maligne Phänotyp. Bedingt durch die zunehmende genetische Instabilität bildet sich dann ein Tumor bestehend aus heterogenen Tumorsubklonen (■ **Abb. 3 und 4a**). Die Tumorzellen und der daraus resultierende Tumor zeigen vereinfacht die biologischen Fähigkeiten, die von Hanahan u.

Weinberg [15, 16] 2000 und 2011 als „*hallmarks of cancer*“ publiziert wurden.

Normalgewebe zeigt einen Aufbau mit hierarchischer Struktur verschiedener Zellen: Nicht alle Zellen haben die gleichen Fähigkeiten, sondern nur Stammzellen besitzen die Eigenschaft der Selbsterneuerung und ein Differenzierungspotenzial zur Umwandlung in ver-

Tab. 1 Primäre und sekundäre Charakteristika von Tumorstammzellen

Primäre Charakteristika	Sekundäre Charakteristika
Unbegrenzte Selbsterneuerung Differenzierungspotenzial (multipotent) Verlust der Aufrechterhaltung der Gewebekompostase	Erhöhte Tumorigenität bei Xenotransplantation Rekapitulation des Primärtumors (mit markerpositiven und -negativen Zellen) Charakteristische (Oberflächen-)Marker Formation von Sphäroiden in Suspension Chemotherapieresistenz Strahlenresistenz

Tab. 2 Übersicht spezifischer CSC-Marker sowie Anteil der CSC an der Gesamtzellpopulation bei verschiedenen Tumorentitäten. (Mod. nach [17, 32, 35])

Tumortyp	(Oberflächen-)Marker der Stammzellpopulation	CSC (%)
Bronchialkarzinom	CD117 ⁺ CD133 ⁺ Sca-1 ⁺	<2
Kolonkarzinom	CD24 ⁺ CD44 ⁺ /EpCAM ^{hi} CD133 ⁺ ALDH1 ⁺	<0,01–2,5
Mammakarzinom	CD44 ⁺ CD44 ⁺ /CD24 ^{low/-} /ESA ⁺ ALDH1 ⁺	<1
Pankreaskarzinom	CD44 ⁺ /CD24 ⁺ /ESA ⁺ CD133 ⁺	1–3
Prostatakarzinom	CD44 ⁺ CD44 ⁺ /α2β1 ^{hi} /CD133 ⁺ Sca-1 ⁺ ALDH1A1 ⁺	0,1
Ovarialkarzinom	CD133 ⁺ CD44 ⁺ /MyD88 ⁺ CD44 ⁺ /CD117 ⁺ CD44 ⁺ /CD24 ⁻ CD44 ⁺ /CD24 ⁺ CD117 ⁺ CD24 ⁺ /EpCam ⁺ ALDH1A1 ⁺ ALDH1A1 ⁺ /CD133 ⁺ ABCG2 („side population“) Nestin	0,03–7,8

CSC „cancer stem cells“.

schiedene Zelltypen. Sie sind Ausgangspunkt neuer Stammzellen und Progenitorzellen (Vorläuferzellen), aus denen differenzierte Zellen hervorgehen. Diese hierarchische Organisation liegt dem *Tumorstammzellmodell* zugrunde (■ **Abb. 5**). In diesem zweiten Modell geht man davon aus, dass nur die Gewebestammzellen die kritischen Mutationen anhäufen können. Aus ihnen können durch asymmetrische Teilung eine zur Stammzelle identische Tochterzelle mit einem identischen Proliferations-, Expansions- und Differenzierungspotenzial und eine Progenitorzelle entstehen, die keine Selbsterneuerungseigenschaften mehr aufweist und in einem hierarchischen Prozess weiter proliferiert

und differenziert. In Einzelfällen können auch Gewebeprogenitorzellen die Selbsterneuerungseigenschaft wiedererlangen und so zum Ausgangspunkt einer Tumorentwicklung werden [13]. Die sich entwickelnde Tumorstruktur zeigt demnach eine hierarchische Gliederung und ist in ■ **Abb. 4a, b** vergleichend mit der heterogenen Tumorstruktur des stochastischen Modells dargestellt. Die CSC haben im Unterschied zu den Gewebestammzellen die Fähigkeit zur homöostatischen Kontrolle des Gewebeaufbaus, also der Balance zwischen Proliferation und Apoptose sowie zwischen Differenzierung und Selbsterneuerung, verloren und zeigen eine deregulierte Proliferation und Expansion sowie oft ein geringeres Differenzierungspotenzial. Die Merkmale der CSC sind in ■ **Tab. 1** zusammengefasst.

renzierungspotenzial. Die Merkmale der CSC sind in ■ **Tab. 1** zusammengefasst.

Der Prozess der Metastasierung und die Struktur der Metastasen unterscheiden sich nach beiden Hypothesen und sind in ■ **Abb. 4c, d** gegenübergestellt. Beide Modelle sind stark vereinfachend und können die wirkliche Komplexität eines Tumors nur annähernd abbilden. Epigenetische Modifikationen in der Genexpression mit Veränderungen des zellulären Phänotyps und die Mikroumgebung des Tumors bleiben ebenso wie Veränderungen des Tumors über die Zeit (subklonale genetische Diversität, Tumolvolumen, Gefäßversorgung, Hypoxie, Nekrosen) unberücksichtigt. Insbesondere der Mikroumgebung der CSC, der sogenannten Stammzellnische, bestehend aus supportiven Zellen (Fibrozyten, immunkompetente Zellen, Perizyten, Endothelzellen...) und extrazellulärer Matrix, wird eine große Bedeutung bei der malignen Progression zugeschrieben.

Methoden der Identifizierung und Anreicherung von Tumorstammzellen

Zellsortierung

Die in der Praxis am häufigsten verwendeten In-vitro-Verfahren zur Identifizierung und Anreicherung von CSC sind die fluoreszenzmarkierte und/oder magnetische Zellsortierung, bei denen spezifische Antikörper gegen einen oder mehrere (Oberflächen-)Marker von Stammzellen verwendet werden (■ **Tab. 2**, ■ **Abb. 6**). Hier wird sichtbar, dass es keinen universellen Tumorstammzellmarker gibt, auch wenn beispielsweise CD133 mit mehreren Tumorentitäten assoziiert ist. Bei bestimmten Tumorentitäten gibt es sogar differente Ergebnisse. Beim kolorektalen Karzinom wurden durch eine Arbeitsgruppe CD133 exprimierende Zellen als CSC identifiziert [28], andere zeigten jedoch, dass CSC EpCAM^{high}/CD44⁺ exprimieren und nicht CD133 [12]. Bei Ovarialkarzinom-CSC sind besonders folgende Marker relevant: CD44, CD117, CD133 und ALDH [24, 36, 37]. Erste immunhistochemische Untersuchungen mit den Stammzellmarkern CD133 und Nestin konnten an einem größeren Patienten-

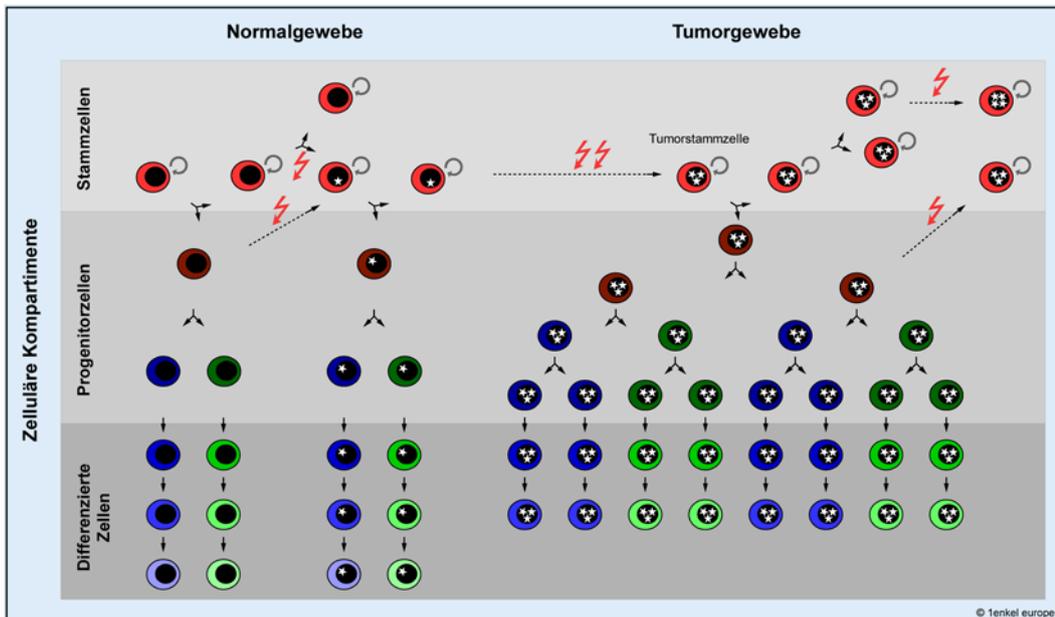


Abb. 5 ▲ Tumorstammzellmodell. In diesem Modell ist die sequenzielle Akkumulation von Mutationen auf „Gewebestammzellen“ beschränkt, die bereits die Eigenschaft zur Selbsterneuerung besitzen (rote Zellen mit kreisförmigem Pfeil). In seltenen Fällen können auch Progenitorzellen (braune Zellen) oder sogar differenzierte Zellen durch (mutationsbedingte) Reprogrammierung die Selbsterneuerungseigenschaft wiedererlangen. Die so entstandenen Tumorstammzellen können sich durch asymmetrische Teilung einerseits selbst erhalten und andererseits in weiter differenzierte Tumorzellen entwickeln. Sie können sich aber auch durch symmetrische Teilung weiter vermehren und im Lauf der malignen Progression zusätzliche Mutationen erwerben. Im Vergleich zum Normalgewebe zeigen die der asymmetrischen Teilung nachgeordneten Tumorzellen ein erhöhtes Proliferationspotenzial (transient schnell replizierende Zellen), eine geringere Apoptoserate und eine weniger stark ausgeprägte Fähigkeit zur Differenzierung (geringere Differenzierungsstufe)

tenkollektiv mit fortgeschrittenem serösem Ovarialkarzinom (n=123) eine verstärkte Cisplatinresistenz sowie ein verkürztes Gesamtüberleben bei einer Überexpression von Nestin nachweisen [31]. In einer anderen Studie mit Immunfluoreszenz an Gewebemikroarrays (TMAs) von 56 Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom zeigten sich ein schlechteres progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben, wenn die Tumorzellen ALDH⁺/CD133⁺ waren [37]. Leider steht hinter diesen und vergleichbaren Ergebnissen [46] beim Ovarialkarzinom noch keine unmittelbare klinische Konsequenz, aber sie unterstreichen die klinische Bedeutung von CSC-Markern für die Prognoseeinschätzung.

Der Anteil der CSC an der Gesamtzahl von Tumorzellen differiert stark und ist abhängig von der Selektionsmethode und dem Stadium der Tumorprogression. Es werden Anteile von 0,0001% [17] bis 41% beschrieben [9]. Bareiss et al. [7] zeigten, dass die Expression des Transkriptionsfaktors SOX2 bei Zellen des serösen Ova-

rialkarzinoms die Expression von CSC-Markern erhöht.

Tumorsphären

CSC können auch durch ihre Eigenschaft identifiziert werden, dass sie bei Kultivierung im serumfreikonditionierten Medium, das mit bestimmten Wachstumsfaktoren versetzt ist, in sogenannten Sphären wachsen. Diese *Tumorsphären* enthalten jedoch neben den CSC auch Progenitorzellen und noch weiter differenzierte, nichttumorigene Zellen [22], weshalb die aus den Sphären gewonnenen Zellen auch als „stem-like cells“ bezeichnet werden.

Teilungsverhalten

Eine weitere Möglichkeit ist ein vom Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie in Leipzig patentiertes Verfahren, das auf dem unterschiedlichen *Teilungsverhalten* der Tumorsubpopulationen basiert [34]. Im Vergleich zu den nichttumorigenen Tumorzellen, die sich

schnell teilen und damit die Haupttumormasse bilden, teilen sich die CSC nur sehr langsam. Es wird ein retrovirales Vektorsystem genutzt, um eine GFP-Insertion (grün fluoreszierendes Protein) in Tumorzellen einzubringen. Hierzu muss dieser Marker zunächst über Plasmide in Vehikzellzellen (Phoenixzellen) transfiziert werden. Anschließend erfolgt eine Transduktion der dadurch hergestellten retroviralen Partikel in alle sich schnell teilenden Zellen. Diese fluoreszieren grün und können so in einer FACS-Analyse („fluorescence-activated cell sorting“) von den sich in der G₀-Phase befindlichen CSC separiert werden. So ist es möglich, unabhängig von Surrogat-Zelloberflächen-Antigenen eine Negativselektion von CSC vorzunehmen. Damit wird ein höherer Reinheitsgrad der separierten CSC im Vergleich zu auf Oberflächenantigenen basierendem Verfahren erreicht, da partiell auch auf den nichttumorigenen Zellen sowie auf somatischen Zellen stammzellassoziierte Antigene exprimiert werden.

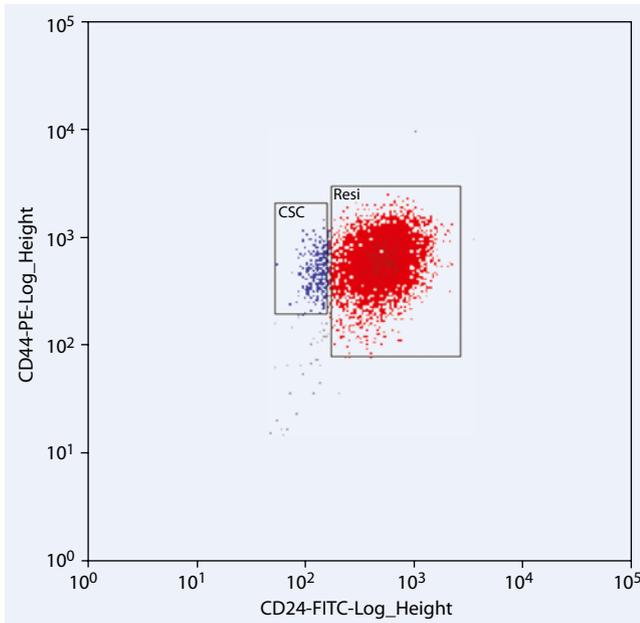


Abb. 6 ◀ FACS („fluorescence-activated cell sorting“). Fluoreszenzsortierung von Tumorstammzellen einer primären Ovarialkarzinomzelllinie. CSC: CD44-PE⁺/CD24-FITC⁻-Zellen (tumorigene CSC-Fraktion). Resi: CD44-PE⁺/CD24-FITC⁺-Zellen (nichttumorigene Residualzellfraktion). PE Phycoerythrin, FITC Fluoresceinisothiocyanat

Xenotransplantation/serielle Transplantationen

Der kritischste Punkt bei den Anreicherungsverfahren liegt im Beweis der Fähigkeit der Zellen, an sekundärer Stelle erneut einen Tumor zu bilden. Der „Goldstandard“ hierfür ist die *Xenotransplantation* auf immundefiziente Mäuse. Zum Nachweis des Selbsterneuerungspotenzials und gleichfalls zu ihrer Anreicherung können auch *serielle Transplantationen* genutzt werden [8].

In-vivo-Monitoring

Neben den Methoden zur Identifizierung und Anreicherung sowie Bestätigung durch Xenotransplantation gibt es ein sehr interessantes Verfahren für ein *In-vivo-Monitoring* der CSC im Gewebe, die genetische Zelllinienverfolgung („cell lineage tracing“). Hierbei kann bei transgenen Mäusen über eine klonale Analyse mit einem Reporter-Gen eine Aussage über das Potenzial zur Proliferation, Heterogenität, Selbsterneuerung und Differenzierung von CSC erreicht werden [8]. Im Wesentlichen geht es um die Frage, wie eine bestimmte Zelle in ihrer natürlichen Umgebung den Grad ihrer terminalen Differenzierung, der das Schicksal dieser Zelle bestimmt, erlangt. In der Entwicklungsbiologie ist das „fate mapping“ (Schicksalsbestimmung) ein

Verfahren zum Verständnis des embryonalen Ursprungs verschiedener Gewebe im erwachsenen Organismus. Dabei wird die Korrespondenz zwischen den einzelnen Zellen (oder Zellgruppen) eines Entwicklungsstadiums und deren Nachkommen in einem späteren Stadium der Entwicklung bestimmt. Wenn dies auf Einzelzellniveau erfolgt, wird diese Prozedur als „cell lineage tracing“ (Zelllinienverfolgung) bezeichnet und wurde bisher mit onkologischer Fragestellung an Haut- und Darmtumoren sowie dem Mammakarzinom durchgeführt. Kürzlich haben Wissenschaftler weitere Ansätze entwickelt, die auf Grundlage von fluoreszierenden Peptidtracern sowie der GFP-Reporter-Gen-Technologie erfolgen [8].

Chemotherapieresistenz und neue Therapieoptionen

Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre sprechen dafür, dass die Rezidiventstehung bei Leukämien und auch bei soliden Tumoren damit zusammenhängt, dass traditionelle Chemo- und Radiotherapien die CSC nur wenig oder gar nicht beeinflussen [26]. Bei der Therapie des Ovarialkarzinoms reduzieren platinhaltige Chemotherapien sehr erfolgreich die Tumormasse. Überlebende CSC können jedoch Ausgangspunkt eines Rezidives sein (▣ **Abb. 4e, f**). Zum Beispiel zeigten Wang et al. [44] an multi-

zellulären Tumorsphäroiden eines Ovarialkarzinoms, dass diese Zellen im Vergleich zur Gesamtheit der Tumorzelllinie (OVCAR-3) wesentlich weniger auf die traditionellen Chemotherapeutika Cisplatin, Topotecan und Docetaxel ansprechen. Es wurden mehrere Mechanismen zur Resistenzentwicklung von CSC beschrieben. Bei CSC des Ovarialkarzinoms wird vermutet, dass sie die präexistenten DNA-Reparatursysteme normaler Stammzellen übernehmen und Membran-ATPasen exprimieren [17]. Zudem sind ovarielle CSC resistent gegenüber der Tumornekrosefaktor- α -induzierten Apoptose [3] und bilden ein Tumormikromilieu, das beispielsweise durch die Ausbildung von Thermotoleranz zu einer Resistenzbildung beiträgt. Insgesamt können wahrscheinlich die CSC einen DNA-Schaden schneller reparieren und exprimieren höhere Level an antiapoptotischen Molekülen [8].

Die Identifizierung und die Anreicherung von CSC eröffnen die Möglichkeit, zielgerichtete Therapien zur selektiven Beeinflussung von CSC zu finden, ohne die somatischen Stammzellen zu schädigen. Zum einen wurde in einem allgemeinen Ansatz versucht, Wirkstoffbibliotheken auf stammzellwirksame Substanzen zu screenen [27]. Zum anderen wurden Moleküle analysiert, die inhibitorisch auf Signalwege wirken, die speziell in CSC dereguliert sind (z. B. Hedgehog, Notch, PTEN/AKT und Wnt/ β -Catenin-Signalwege). Dieser Ansatz hat zur Identifizierung mehrerer potenzieller therapeutischer Wirkstoffe geführt, die derzeit in Studien getestet werden. Die Firma OncoMed Pharmaceuticals hat beispielsweise im September 2013 erklärt, dass sie eine klinische Studie Phase Ib/II mit ihrem Antitumorstammzellmedikament Demcizumab, einem humanisierten monoklonalen Antikörper gegen den Delta-Like Ligand 4 (DLL4) im Notchsignalweg, begonnen hat. Dieses Medikament ist als Kombinationstherapie bereits beim fortgeschrittenen Pankreas- und nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom in Phase-Ib-Studien getestet worden. Nun wird es in Kombination mit Paclitaxel beim platinresistenten Ovarialkarzinom untersucht. Weitere Substanzen sind in der präklinischen Testung [1].

Eine weitere vielversprechende Therapiemöglichkeit entsteht durch die Verwendung von CSC in der Immuntherapie; es gibt bereits Studien zur therapeutischen Nutzung dendritischer Zellen, die mit CSC beladen werden [29, 45].

Zudem wird die Nutzung von Gewebestammzellen, insbesondere den aus der Plazenta stammenden mesenchymalen Stammzellen, als Vektoren für therapeutische Trans-Gene auf Tumorzellen erforscht. Erste Studien beim Ovarialkarzinom liegen vor, in denen zelltoxische und proliferationshemmende Gene übertragen wurden [25].

Status quo und Perspektiven

In den letzten Jahrzehnten haben sich Untersuchungen an Stammzellen zu einem eigenständigen Forschungsgebiet in der Medizin entwickelt. Neben den embryonalen und adulten (Gewebe-) Stammzellen als zentralem Element in der Regenerationsmedizin haben die CSC der onkologischen Forschung eine neue Ausrichtung gegeben. Das Tumorstammzellmodell hat sich zur Darstellung der Tumorinitiierung und der malignen Progression, einschließlich der Mechanismen der Metastasierung und Rezidiventstehung, etabliert und spiegelt insbesondere beim Ovarialkarzinom den klinischen Krankheitsverlauf mit einer oft guten Chemotherapiesensitivität in der ersten Erkrankungsphase und zunehmender Chemotherapieresistenz im weiteren Verlauf theoretisch gut wieder. Ob die CSC wirklich für den klinischen Verlauf unserer Patientinnen verantwortlich sind, bleibt allerdings vorerst noch offen.

Zunächst ist es aus unserer Sicht essenziell, die Methoden zur Identifizierung einzelner CSC zu optimieren und zu standardisieren, da die bisher verwendeten (Oberflächen-)Marker nicht spezifisch genug sind. Dies ist die Grundlage für eine zielgerichtete CSC-orientierte Diagnostik am Primärtumor oder auch in entfernteren Kompartimenten (Knochenmark, Blut) und damit der erste Schritt für eine CSC-basierte Prognosebeurteilung und auch eine personalisierte, auf CSC ausgerichtete Krebsmedizin. Die Methoden der Separation einer größeren Anzahl von CSC und deren Kultivie-

rung müssen ebenfalls verbessert werden, da nach unserer Erfahrung gegenwärtig nur in ca. 20% die Etablierung einer Tumorstammzelllinie aus einem Primärtumor gelingt. Dies ist aber die Voraussetzung für die präklinische Testung neuer Substanzen und auch für individuelle prätherapeutische In-vitro-Untersuchungen. Darüber hinaus wäre eine vergleichende Analyse von CSC-Isolierungen zum gleichen Zeitpunkt, aber an verschiedenen Tumorlokalisationen (Primärtumor und Metastase) sowie sequenziell in der Primär- und Rezidivsituation wünschenswert, um die sogenannte zelluläre Plastizität des Systems mit Änderung der zellulären Hierarchie, einschließlich des Einflusses einer Systemtherapie, besser zu verstehen [41].

Im letzten Jahrzehnt haben genomweite Sequenzierungsanalysen verschiedener Tumorentitäten zu bahnbrechenden Erkenntnissen der Karzinogenese geführt und eine Gruppe von entscheidenden Treibermutationen identifiziert [43]. Die Rolle der CSC und ihre Unterschiede zu den nichttumorigenen Zellen müssen in diesem Kontext noch weiter spezifiziert werden.

Bei den therapeutischen Ansätzen steht nicht nur die Induktion des Zelltodes der CSC (wie in **Abb. 4** dargestellt) im Vordergrund, sondern auch die Beeinflussung des Selbsterneuerungspotenzials und der spezifischen Mikroumgebung, der Stammzellnische. So werden beispielsweise Wege gesucht, um die CSC in eine Differenzierung zu drängen. Eine allein gegen die CSC gerichtete Therapie wird aufgrund der Plastizität der CSC-Nachkommen nicht ausreichend sein, um den gesamten Tumor zu erfassen [41], sodass wahrscheinlich eine Kombination mit klassischen Chemotherapeutika angestrebt werden muss. Wir sind unsicher, dass sich die klinische Bedeutung der CSC in Zukunft enorm steigern wird.

Fazit für die Praxis

- Das Tumorstammzellmodell liefert eine Erklärung für klinische Charakteristika des Krankheitsverlaufs beim Ovarialkarzinom wie die Entwicklung

von Chemotherapieresistenzen und die hohe Rezidivrate.

- Ovarialkarzinome haben ihren Ursprung im Müller-Epithel und seltener auch im ovariellen Oberflächenepithel. Bei der Tumorinitiierung sind Gewebestammzellen beteiligt.
- Die Identifizierung von Tumorstammzellen (CSC) ist dadurch erschwert, dass bisher noch keine ausreichend spezifischen Oberflächenmarker gefunden wurden.
- Eine optimierte Identifizierung und Anreicherung von CSC bildet die Grundlage für die Entwicklung zielgerichteter Therapien zur selektiven Beeinflussung von CSC ohne Schädigung der somatischen Stammzellen.
- Therapeutische Ansätze finden sich in der Induktion des Zelltodes der CSC, der Beeinflussung des Selbsterneuerungspotenzials und der Stammzellnische.

Korrespondenzadresse

Dr. J. Einenkel

Zentrum für Frauen- und Kindermedizin,
Gynäkologische Onkologie,
Universitätsfrauenklinik Leipzig
Liebigstr. 20a, 04103 Leipzig
Jens.Einenkel@medizin.uni-leipzig.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. R. Vochem, J. Einenkel, L.-C. Horn, P. Ruschpler geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

Literatur

1. <http://globenewswire.com/news-release/2013/09/19/574492/10049108/en/OncoMed-Pharmaceuticals-Initiates-Phase-1b-2-Clinical-Trial-of-Demcizumab-Anti-DLL4-in-Combination-with-Paclitaxel-in-Ovarian-Cancer.html>. Zugriffsdatum: 02. Nov. 2013
2. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A et al (2003) Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(7):3983–3988. doi:10.1073/pnas.0530291100
3. Alvero AB, Chen R, Fu H et al (2009) Molecular phenotyping of human ovarian cancer stem cells unravels the mechanisms for repair and chemoresistance. *Cell Cycle* 8:158–166

4. Auersperg N (2013) Ovarian surface epithelium as a source of ovarian cancers: unwarranted speculation or evidence-based hypothesis? *Gynecol Oncol* 130:246–251. doi:10.1016/j.ygyno.2013.03.021
5. Auersperg N (2013) The stem-cell profile of ovarian surface epithelium is reproduced in the oviductal fimbriae, with increased stem-cell marker density in distal parts of the fimbriae. *Int J Gynecol Pathol* 32:444–453. doi:10.1097/PGP.0b013e3182800ad5
6. Bapat SA, Mali AM, Koppikar CB et al (2005) Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 65:3025–3029. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-3931
7. Bareiss PM, Paczulla A, Wang H et al (2013) SOX2 expression associates with stem cell state in human ovarian carcinoma. *Cancer Res* 73:5544–5555. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-4177
8. Beck B, Blanpain C (2013) Unravelling cancer stem cell potential. *Nat Rev Cancer* 13:727–738. doi:10.1038/nrc3597
9. Boiko AD, Razorenova OV, Rijn, Matt van de et al (2010) Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271. *Nature* 466:133–137. doi:10.1038/nature09161
10. Bonnet D, Dick JE (1997) Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 3:730–737
11. Bowen NJ, Walker LD, Matyunina LV et al (2009) Gene expression profiling supports the hypothesis that human ovarian surface epithelia are multipotent and capable of serving as ovarian cancer initiating cells. *BMC Med Genomics* 2:71. doi:10.1186/1755-8794-2-71
12. Dalerba P, Dylla SJ, Park I et al (2007) Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:10158–10163. doi:10.1073/pnas.0703478104
13. Dean M (2006) Cancer stem cells: redefining the paradigm of cancer treatment strategies. *Mol Interv* 6:140–148. doi:10.1124/mi.6.3.5
14. Gamwell LF, Collins O, Vanderhyden BC (2012) The mouse ovarian surface epithelium contains a population of LY6A (SCA-1) expressing progenitor cells that are regulated by ovulation-associated factors. *Biol Reprod* 87:80. doi:10.1095/biolreprod.112.100347
15. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100:57–70
16. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144:646–674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
17. Hu L, McArthur C, Jaffe RB (2010) Ovarian cancer stem-like side-population cells are tumorigenic and chemoresistant. *Br J Cancer* 102:1276–1283. doi:10.1038/sj.bjc.6605626
18. Jemal A, Ward E, Hao Y et al (2005) Trends in the leading causes of death in the United States, 1970–2002. *JAMA* 294:1255–1259. doi:10.1001/jama.294.10.1255
19. Kurman RJ, Shih I (2011) Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer – shifting the paradigm. *Hum Pathol* 42:918–931. doi:10.1016/j.humpath.2011.03.003
20. Kurman RJ, Vang R, Junge J et al (2011) Papillary tubal hyperplasia. *Am J Surg Pathol* 35:1605–1614. doi:10.1097/PAS.0b013e318229449f
21. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J et al (1994) A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 367:645–648
22. Liao J, Qian F, Tchabo N et al (2014) Ovarian cancer spheroid cells with stem cell-like properties contribute to tumor generation, metastasis and chemotherapy resistance through hypoxia-resistant metabolism. *PLoS One* 9:e84941. doi:10.1371/journal.pone.0084941
23. Lim D, Oliva E (2013) Precursors and pathogenesis of ovarian carcinoma. *Pathology* 45:229–242. doi:10.1097/PAT.0b013e3182835f264
24. Luo L, Zeng J, Liang B et al (2011) Ovarian cancer cells with the CD117 phenotype are highly tumorigenic and are related to chemotherapy outcome. *Exp Mol Pathol* 91:596–602. doi:10.1016/j.yexmp.2011.06.005
25. Mavroudi M, Zarogoulidis P, Porpodis K et al (2014) Stem cells' guided gene therapy of cancer: new frontier in personalized and targeted therapy. *J Cancer Res Ther* 2:22–33. doi:10.14312/2052-4994.2014-4
26. McDermott SP, Wicha MS (2010) Targeting breast cancer stem cells. *Mol Oncol* 4:404–419. doi:10.1016/j.molonc.2010.06.005
27. Mezencev R, Wang L, McDonald JF (2012) Identification of inhibitors of ovarian cancer stem-like cells by high-throughput screening. *J Ovarian Res* 5:30. doi:10.1186/1757-2215-5-30
28. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S et al (2007) A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 445:106–110. doi:10.1038/nature05372
29. Pellegatta S, Poliani PL, Corno D et al (2006) Neurospheres enriched in cancer stem-like cells are highly effective in eliciting a dendritic cell-mediated immune response against malignant gliomas. *Cancer Res* 66:10247–10252. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-2048
30. Pothuri B, Leitao MM, Levine DA et al (2010) Genetic analysis of the early natural history of epithelial ovarian carcinoma. *PLoS One* 5:e10358. doi:10.1371/journal.pone.0010358
31. Qin Q, Sun Y, Fei M et al (2012) Expression of putative stem marker nestin and CD133 in advanced serous ovarian cancer. *Neoplasma* 59:310–315. doi:10.4149/neo_2012_040
32. Rahman M, Deleyrolle L, Vedam-Mai V et al (2011) The cancer stem cell hypothesis: failures and pitfalls. *Neurosurgery* 68:531–545 (discussion 545). doi:10.1227/NEU.0b013e3181ff9eb5
33. Roland IH, Yang W, Yang D et al (2003) Loss of surface and cyst epithelial basement membranes and preneoplastic morphologic changes in prophylactic oophorectomies. *Cancer* 98:2607–2623. doi:10.1002/cncr.11847
34. Ruschpler P, Brinckmann U, Fabian C (2013) Identifikation und Gewinnung von Tumorstammzellen. <http://www.google.com/patents/EP2600153A1?cl=de>
35. Shah MM, Landen CN (2013) Ovarian cancer stem cells: are they real and why are they important? *Gynecol Oncol*. doi:10.1016/j.ygyno.2013.12.001
36. Shi MF, Jiao J, Lu WG et al (2010) Identification of cancer stem cell-like cells from human epithelial ovarian carcinoma cell line. *Cell Mol Life Sci* 67:3915–3925. doi:10.1007/s00018-010-0420-9
37. Silva IA, Bai S, McLean K et al (2011) Aldehyde dehydrogenase in combination with CD133 defines angiogenic ovarian cancer stem cells that portend poor patient survival. *Cancer Res* 71:3991–4001. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-3175
38. Simon E, Petke D, Böger C et al (2012) The spatial distribution of LGR5+ cells correlates with gastric cancer progression. *PLoS One* 7:e35486. doi:10.1371/journal.pone.0035486
39. Szotek PP, Chang HL, Brennand K et al (2008) Normal ovarian surface epithelial label-retaining cells exhibit stem/progenitor cell characteristics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:12469–12473. doi:10.1073/pnas.0805012105
40. Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT et al (2006) Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian Inhibiting Substance responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:11154–11159. doi:10.1073/pnas.0603672103
41. Tang DG (2012) Understanding cancer stem cell heterogeneity and plasticity. *Cell Res* 22:457–472. doi:10.1038/cr.2012.13
42. Vang R, Shih I, Kurman RJ (2013) Fallopian tube precursors of ovarian low- and high-grade serous neoplasms. *Histopathology* 62:44–58. doi:10.1111/his.12046
43. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE et al (2013) Cancer genome landscapes. *Science* 339:1546–1558. doi:10.1126/science.1235122
44. Wang L, Mezencev R, Bowen NJ et al (2012) Isolation and characterization of stem-like cells from a human ovarian cancer cell line. *Mol Cell Biochem* 363:257–268. doi:10.1007/s11010-011-1178-6
45. Xu Q, Liu G, Yuan X et al (2009) Antigen-specific T-cell response from dendritic cell vaccination using cancer stem-like cell-associated antigens. *Stem Cells* 27:1734–1740. doi:10.1002/stem.102
46. Zhang J, Guo X, Chang DY et al (2012) CD133 expression associated with poor prognosis in ovarian cancer. *Mod Pathol* 25:456–464
47. Zou K, Yuan Z, Yang Z et al (2009) Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nat Cell Biol* 11:631–636. doi:10.1038/ncb1869



Kommentieren Sie diesen Beitrag auf springermedizin.de

► Geben Sie hierzu den Beitragstitel in die Suche ein und nutzen Sie anschließend die Kommentarfunktion am Beitragsende.