

Cèl·lules mare del càncer: què hem après fins avui?

Anna Bigas

Les cèl·lules mare són cèl·lules capaces de donar lloc a tots els tipus cel·lulars del nostre organisme, són totipotents. Des de fa anys existeixen cèl·lules mare es poden generar i cultivar al laboratori i són capaces de donar lloc a gairebé tots els teixits i es diuen pluripotents. Hi ha, però, altres tipus de cèl·lules mare que són específiques de cada teixit i que són difícils de generar o de mantenir in vitro. En el nostre laboratori estudiem com es generen les cèl·lules mare de la sang o hematopoètiques (CMH) durant el desenvolupament embrionari per conèixer quins senyals necessiten i així poder algun dia reproduir aquest procés in vitro, al laboratori.

Estudiar les cèl·lules mare també ens ajuda a investigar com curar el càncer. Actualment, està demostrat que els tumors o leucèmies es mantenen o es reproduïxen mantenint una població que imita a les cèl·lules mare. Són cèl·lules més quiescents, fins i tot adormides, que tenen un gran potencial de proliferació i de supervivència. En el laboratori utilitzem els nostres coneixements sobre les cèl·lules

mare normals per dissenyar noves estratègies de tractament del càncer i la leucèmia.

Cèl·lules mare pluripotents

Les cèl·lules mare embrionàries (CME), també conegudes com a cèl·lules mare pluripotents (CMP), són línies cel·lulars derivades de la massa cel·lular interna de blastocists^{1,2}. Es cultiven en condicions específiques que preserven la seva capacitat d'autorenovació. Una font no embrionària de cèl·lules PSC es pot obtenir reprogramant cèl·lules somàtiques mitjançant la introducció de factors de transcripció específics (Sox2, Oct4, myc, klf4) que induïxen la pluripotència³. Un cop reprogramades, les PSC induïdes (iPSC) encara són pluripotents amb característiques gairebé idèntiques a les PSC. Ambdós tipus de PSC poden ser induïdes a diferenciar-se cap a qualsevol tipus cel·lular sota condicions específiques⁴.

La pluripotència o la capacitat de diferenciar-se en diferents llinatges es pot avaluar in vivo mitjançant la formació de teratomes en injectar les

PSC en receptors murins; o in vitro, definint els senyals adequats (citoquines o petites molècules) que activen diferents vies de senyalització i generen tipus cel·lulars «a la carta». Les possibilitats que ofereixen aquestes cèl·lules per generar productes cel·lulars terapèutics són molt grans. Durant anys, els investigadors han intentat imitar el desenvolupament in vivo de les CMH a partir de precursors hemogènics (HE) i mesodèrmics mitjançant la incubació amb factors específics. La majoria de les condicions condueixen a la generació de cèl·lules hematopoètiques que s'assemblen a l'ona primitiva, la que només genera cèl·lules diferenciades però no cèl·lules mare.

Les cèl·lules pluripotents poden formar cossos embrionaris, que són estructures 3D que s'assemblen als embrions primerencs, constituïdes per cèl·lules multipotents i diferenciades de les tres capes germinals. Actualment s'ha desenvolupat un tipus d'estructura 3D que té un alt nivell d'organització cel·lular semblant als embrions i que

s'anomena gastruloid⁵. Els gastruloides són organoides embrionaris resultants de l'agregació d'un nombre precís de PSC que, en condicions de cultiu definides, desenvolupen una organització que imita l'embrió primerenc dels mamífers. Després de 7 dies de cultiu, els gastruloides procedents de cèl·lules pluripotents de ratolí desenvolupen una complexa organització espacial amb derivats de les tres capes germinals disposats respecte a tres eixos ortogonals d'una manera que reflecteix l'organització de l'embrió de ratolí a E9.5. Els gastruloides manquen de cervell i de teixits extraembrionaris, però contenen progenitors dels altres òrgans i teixits del cos.

Les cèl·lules mare hematopoètiques

Les CMH donen lloc a diferents tipus de progenitors intermedis que formen tots els tipus de cèl·lules sanguínies als organismes adults. No obstant això, durant el desenvolupament embrionari, la jerarquia hematopoètica és diferent i hi ha una hematopoesi independent de les CMH⁶.

En els vertebrats, es produeixen tres onades hematopoètiques a l'embrió després de la gastrulació: 1) a la primera onada es formen eritròcits, macròfags i megacariòcits primitius per sostenir el requeriment inicial d'oxigen i la remodelació dels teixits; 2) a la segona onada es formen progenitors eritroides i mieloides (EMP), que es convertiran en

macròfags residents al teixit de llarga durada; 3) i a la tercera té lloc a la regió aorta-gònada-mesonefros (AGM) i es produeix la detecció de les primeres CMH amb capacitat de regeneració sanguínia in vivo després del trasplantament. Les cèl·lules de la segona i tercera onada es generen a partir d'un subtipus especialitzat de cèl·lules endotelials anomenat endoteli hemogènic. Poc després de la seva formació, les CMH migren al fetge fetal, on s'autoregeneren activament i adquireixen característiques de CMH definitives/adultes.

Les CMH són la font de trasplantament per a diferents indicacions terapèutiques en què cal substituir el sistema hematopoètic.

A causa de la rellevància clínica d'aquestes aplicacions, i de la manca de donants compatibles HLA per a alguns pacients, hi ha un gran interès en la generació d'aquestes cèl·lules in vitro. Entendre els esdeveniments que guien l'especificació de les CMH és crucial, no sols per a fins de medicina regenerativa, sinó també per a una millor comprensió de la transformació leucèmica. En aquest sentit, és important dissecionar les vies de senyalització implicades en l'especificació de les CMH i com la seva desregulació pot conduir al desenvolupament de diferents tipus de leucèmia. S'han descrit diferents vies de senyalització que són crítiques per a una formació adequada de les CMH a la regió AGM⁷. En particular, s'ha descrit que

les vies WNT/ β -CATENINA, HEDGEHOG, BMPs/SMADs, JAK/STATs, àcid retinoic, Notch i les vies inflamàtores convergeixen i activen les proteïnes de remodelació de la cromatina i els factors de transcripció que regulen el procés de transició endotelial-hematopoètica.

Les vies de senyalització del desenvolupament poden influir en la quantitat de conversió d'EHT, però el més rellevant és que la seva activitat ha d'estar regulada estretament per obtenir CMH sanes. Per exemple, les cèl·lules que se sotmeten a l'EHT requereixen l'activitat de Notch, això no obstant necessiten reduir els nivells d'activació en comparació amb les veïnes endotelials⁸.

En aquest escenari específic, la sobreactivació o la inactivació de Notch resulta en l'eliminació del procés de generació de CMH. Els nivells d'activitat de Notch estan altament regulats pels lligands de Notch, Jagged1 i Delta-like 4 i la seva interacció amb el receptor Notch. De la mateixa manera, l'activitat de Wnt/catenina és necessària en un moment molt específic de la formació de les CMH i no ho és després⁹. Les BMP/SMAD són una altra via activa a l'EHT primerenca; de l'activitat de les CMH a l'AGM quan es tracta tant amb l'activador de BMP4 com amb l'inhibidor de BMPER¹⁰. Totes aquestes vies haurien de convergir en l'activació de set factors de transcripció (heptad) necessaris per a

les CMH (SCL, LYL1, LMO2, GATA2, RUNX1, ERG i FLI-1).

En resum, hi ha molts senyals de desenvolupament que són importants en l'especificació d'EHT i CMH, però, tots ells han d'estar estretament regulats i coordinats a la mateixa cèl·lula per produir un CMH, creant possiblement una estocasticitat molt ajustada que podria explicar la raresa d'aquest esdeveniment.

Les cèl·lules mare tumorals o leucèmiques

Aquestes vies de senyalització són també rellevants en els processos tumorals i en molts casos els gens implicats són oncogens importants. És el cas de Notch, que en leucèmia limfoblàstica aguda de tipus T (LLA-T) és un dels oncogens *drivers* més freqüents. En el nostre laboratori hem vist com l'activació aberrant de Notch té una incidència directa sobre

el número de cèl·lules iniciadores de leucèmia T en un model de ratolí¹¹.

Això ens permet buscar tractaments complementaris que puguin erradicar aquestes cèl·lules com hem fet en el cas de Wnt. Recentment també hem identificat els gens que regulen la via de Wnt en LLA-T i hem vist que estan implicats en la resistència a la quimioteràpia.

Més concretament, hi ha una firma de gens regulats per Wnt que ens poden identificar els pacients que no respondran a la quimioteràpia i que com a conseqüència tenen més mal pronòstic¹². En altres estudis, hem investigat les mutacions existents en les cèl·lules de recaiguda de pacients de LLA-T per identificar aquells canvis en el DNA que poden afavorir l'existència d'aquestes cèl·lules¹³.

No només en leucèmies són importants els programes embrionaris que regulen les cèl·lules

mare. En càncer de còlon, junt amb el nostre col·laborador Dr. Lluís Espinosa, hem identificat una firma de gens que s'expressen en l'intestí embrionari i que quan els trobem expressats en càncer de còlon ens poden identificar pacients amb pitjor pronòstic. Aquestes cèl·lules amb firmes embrionàries tenen una capacitat més gran d'entrar en un estat quiescent en resposta a la quimioteràpia i així sobreviure al tractament¹⁴.

En resum, les cèl·lules mare ens poden proporcionar grans oportunitats terapèutiques per tractar diverses malalties en les quals es necessiti la regeneració de teixits i al mateix temps ens ajuden a entendre el càncer i com buscar noves estratègies terapèutiques per evitar la supervivència de les cèl·lules tumorals.

Referències

1. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981;292:154-6.
2. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282:1145-7.
3. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126:663-76.
4. Murry CE, Keller G. Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: lessons from embryonic development. *Cell*. 2008;132:661-80.
5. van den Brink SC, Alemany A, van Batenburg V, Moris N, Blotenburg M, Vivie J, et al. Single-cell and spatial transcriptomics reveal somitogenesis in gastruloids. *Nature*. 2020;582:405-9.
6. Dzierzak E, Bigas A. Blood development: hematopoietic stem cell dependence and independence. *Cell Stem Cell*. 2018;22:639-51.
7. Perrimon N, Pitsouli C, Shilo BZ. Signaling mechanisms controlling cell fate and embryonic patterning. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012;4:a005975.
8. Gama-Norton L, Ferrando E, Ruiz-Herguido C, Liu Z, Guiu J, Islam AB, et al. Notch signal strength controls cell fate in the haemogenic endothelium. *Nat Commun*. 2015;6:8510.
9. Ruiz-Herguido C, Guiu J, D'Altri T, Ingles-Esteve J, Dzierzak E, Espinosa L, et al. Hematopoietic stem cell development requires transient Wnt/beta-catenin activity. *J Exp Med*. 2012;209:1457-68.
10. McGarvey AC, Rybtsov S, Souilhol C, Tamagno S, Rice R, Hills D, et al. A molecular roadmap of the AGM region reveals BMPER as a novel regulator of HSC maturation. *J Exp Med*. 2017;214:3731-51.
11. Gekas C, D'Altri T, Aligue R, Gonzalez J, Espinosa L, Bigas A. Beta-catenin is required for T-cell leukemia initiation and MYC transcription downstream of Notch1. *Leukemia*. 2016;30:2002-10.
12. García-Hernández V, Arambilet D, Guillén Y, Lobo-Jarne T, Maqueda M, Gekas C, et al. β -Catenin activity induces an RNA biosynthesis program promoting therapy resistance in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *EMBO Mol Med*. 2023 Jan 4;e16554. doi: 10.15252/emmm.202216554. Online ahead of print.
13. Sentis I, González S, Genesca E, García-Hernández V, Muinos F, González C, et al. The evolution of relapse of adult T cell acute lymphoblastic leukemia. *Genome Biol*. 2020;21:284.
14. Sole L, Lobo-Jarne T, Álvarez-Villanueva D, Alonso-Maranon J, Guillén Y, Guix M, et al. p53 wild-type colorectal cancer cells that express a fetal gene signature are associated with metastasis and poor prognosis. *Nat Commun*. 2022;13:2866.