

Úloha kmeňových buniek pri vzniku nádoru, tvorbe metastáz a ich využitie v nádorovej terapii

doc. Ing. Čestmír Altaner, DrSc., Ing. Veronika Altanerová, CSc.

Ústav experimentálnej onkológie SAV, Bratislava

V prehľadovom článku sa uvádzajú pokroky v oblasti výskumu kmeňových buniek so zameraním na ich úlohy v ľudskom organizme a na ich klinické využitie. Pozornosť je venovaná úlohe mezenchýmových kmeňových buniek ako potenciálneho prostriedku regeneračnej medicíny. Diskutuje sa pôvod nádor iniciujúcich buniek – nádorových kmeňových buniek vrátane ich úlohy pri vzniku metastáz. Zdá sa, že nádor iniciujúce bunky sú zodpovedné za rezistenciu mnohých konvenčných nádorových terapií, čo môže vysvetľovať limitácie týchto terapeutických modalít. Diskutuje sa vlastnosť mezenchýmových kmeňových buniek púťovať do nádoru a zúčastniť sa na tvorbe nádorovej stromy. Dostupnosť mezenchýmových kmeňových buniek z ľudského adipózneho tkaniva, možnosť tieto bunky geneticky modifikovať samovražednými génmi a ich schopnosť vyhľadať nádor v organizme, tvorí z nich atraktívny prostriedok nádorovej terapie bez systémovej toxicity. V článku krátko sumarizujeme publikované výsledky z nášho laboratória zamerané na cieľnú génovú terapiu nádorov pomocou geneticky modifikovaných kmeňových buniek. Ukazuje sa, že terapia založená na kmeňových bunkách je perspektívnym prístupom pri liečbe zdedených a degeneratívnych ochorení a tiež liečebnou modalitou ľudských malignít.

Kľúčové slová: kmeňové bunky, nádorové kmeňové bunky, cieľné génová terapia nádorov.

Role of stem cells in tumor initiation, metastasis formation and their use in cancer therapy

This review considers recent advances in the stem cell field focusing on the challenges and opportunities for their use in clinical practice. Various kinds of stem cells and their roles in the human organism are in the review described. Attention is given to the role of mesenchymal stem cells as a potential tool in regenerative medicine. The origin and consequences of existence of tumor-initiating cells known as cancer stem cells is discussed also in context of metastasis formation. It seems that tumor-initiating cells might be responsible for resistance to many conventional cancer therapies, which might explain the limitations of these therapeutic modalities. Furthermore, the review focuses to tumor homing property of adult mesenchymal (stromal) stem cells. The feasibility of mesenchymal stem cells isolation from human adipose tissue, their genetic modifications with suicide genes together with ability to find tumor in the organism make them an attractive vehicle for cancer therapy without systemic toxicity. Published achievements from our laboratory in stem cell-based gene cancer therapy are shortly summarized. Generally, it is believed that the stem cell therapies might be ideal future treatment modality for inherited, degenerative diseases and in curing human malignancies as well.

Key words: stem cells, cancer stem cells, stem cell-based cancer gene therapy.

Onkológia (Bratisl.), 2010; roč. 5 (1): 26–30

Úvod

V ostatných desiatich rokoch sa naše poznatky o kmeňových bunkách rozšírili predovšetkým vďaka tomu, že sa našli spôsoby, ako ich izolovať a kultivovať *in vitro*. Kmeňové bunky sa tešia v súčasnosti veľkému záujmu vedeckých pracovníkov hlavne z toho dôvodu, že ako sa ukazuje na zvieracích modeloch, je tu možnosť náhrady opotrebovaných a chorých tkanív zdravými bunkami, čo predstavuje revolučné zmeny v liečebných praktikách. Ukazujú to aj prvé klinické štúdie regeneračnej medicíny. V onkológii sa nové poznatky o kmeňových bunkách sústreďujú na identifikáciu nádorových kmeňových buniek, buniek ktoré sú iniciátormi rastu nádoru, na ich charakterizáciu, od ktorej sa sľubuje možnosť novej cieľenej liečby nádorov, ktorá by mala byť liečbou príčinnou, nie len liečbou následkov. Tento smer terapie nádorov je len v začiatkoch a vyžaduje si ďalšie poznatky. Jednoduchá predstava, že odstránenie nádor iniciujúcich buniek povedie k vyliečeniu pacienta, má aj podporu vo všeobecne známej skutočnosti,

že chirurgické odstránenie nádoru vo včasnom štádiu má najlepší terapeutický výsledok, čo do prežívania pacientov. Cieľená likvidácia nádorových kmeňových buniek je zatiaľ viac-menej len v teoretickej rovine, využitie kmeňových buniek na génovú terapiu naberá však jasné kontúry začínajúcimi klinickými štúdiami.

Druhy kmeňových buniek

Na základe pôvodu kmeňových buniek rozlišujeme embryonálne kmeňové bunky, ktoré sa dajú získať z vnútornej vrstvy embrya v predimplantačnom štádiu a dospelé kmeňové bunky, ktoré sa nachádzajú ako nediferencované bunky v dospelých tkanivách. Dôležitou vlastnosťou oboch typov je ich schopnosť sebaobnovy, čo je dané zvláštnym asymetrickým spôsobom ich delenia, kedy vzniká jedna bunka totožná s pôvodnou bunkou a jedna progenitorová predurčená na ďalšiu diferenciáciu.

Na základe diferenciačného potenciálu rozdeľujeme kmeňové bunky na totipotentné, pluripo-

tentné a multipotentné. Embryonálne kmeňové bunky sú *totipotentné*, lebo z jednej bunky môže vzniknúť celý organizmus vrátane embryonálnych tkanív potrebných pre vývoj jedinca (placenta). *Pluripotentné* kmeňové bunky sú schopné produkovať bunky odvodené od všetkých zárodočných vrstiev (endoderm, ektoderm, mesoderm) a zárodočné bunky, ale nie extra embryonálne tkanivá. *Multipotentné* kmeňové bunky sa môžu diferencovať na mnoho typov buniek, väčšinou špecifických pre určité tkanivá (napr. hematopoetické kmeňové bunky, neurálne, mezenchýmové).

Dospelé kmeňové bunky sa zväčša nachádzajú v pokojovej fáze bunkového cyklu, a preto sú často charakterizované schopnosťou sebaobnovy a schopnosťou diferenciácie na bunky, ktoré vykonávajú vysoko špecializované funkcie. Významnou vlastnosťou je aj ich nesmrteľnosť, čiže schopnosť dlhodobej reprodukcie v organizme, čo súvisí s ich vysokou rezistenciou k cytotoxickým látkam a s ich účinnou DNA opravou. Mezenchýmové kmeňové bunky (MSC), podobne

ako hematopoetické kmeňové bunky, sú derivované z mezodermy. MSC sa taktiež nazývajú stromálne bunky, lebo v kostnej dreni slúžia ako podporné bunky hematopoetickým kmeňovým bunkám. Práce z ostatných rokov ukazujú, že ľudské mezenchymové bunky sa nachádzajú vo všetkých vaskularizovaných tkanivách tela a že sú odvodené z pericytov alebo sú s nimi identické. MSC tvoria strómu tkaniva, stabilizujú krvné kapiláry tým, že obklopujú ich endotelové bunky v mnohých vaskularizovaných orgánoch, napr. v tukovom tkanive, v svalových tkanivách skeletu, v pankrease, v zubnom väčku, v placente (odkiaľ sa aj dajú izolovať). Dospelé kmeňové bunky sú schopné sebaobnovy a vykonávajú v organizme obnovu opotrebovaných diferencovaných buniek a opravy poškodených tkanív. Vďaka ich transdiferenčialnému potenciálu sa stávajú nádejnými kandidátmi na terapiu rôznych ochorení. Na rozdiel od embryonálnych kmeňových buniek, v prípade dospelých kmeňových buniek neexistujú žiadne etické výhrady využívať ich pre výskum a liečbu.

Nádorové kmeňové bunky

Neustále narastajúci počet publikácií dokazuje, že vo väčšine, ak nie vo všetkých zhubných nádoroch, sa nachádza minoritná populácia buniek, ktoré majú biologické vlastnosti kmeňových buniek. Tieto nádorové kmeňové bunky sú schopné iniciovať vznik nádoru – indukovať tumorigenézu. Sú charakterizované biologicky tak, že malé množstvo týchto ľudských buniek je schopné vyvolať nádor na imunodeficientnej myši, ktorý svojim polyklonálnym zložením je totožný s pôvodným nádorom, z ktorého nádorové kmeňové bunky boli izolované. Sú prirodzene rezistentné na súčasne existujúce cytostatiká a rádioterapiu. Práce ukazujú, že nádory vznikajú z normálnych kmeňových buniek a/alebo z progenitorových buniek ich mutáciou, čo je dôvod pre ich bunkovú heterogenitu. Niektoré údaje nevylučujú možnosť vzniku nádorových kmeňových buniek zo somatickej bunky takou mutáciou, ktorá aktivuje gény pre sebaobnovu, typickú vlastnosť kmeňových buniek. Vznik nádorových kmeňových buniek a ich funkciu v nádore znázorňuje obrázok 1.

Normálna kmeňová bunka a multipotentná progenitorová bunka môžu mutovať, pričom si zachovávajú svoje vlastnosti. V dôsledku asymetrického delenia tak vzniká jedna nádorová kmeňová bunka a jedna mutovaná bunka, ktorá má možnosť čiastočne aberantne sa diferencovať, a preto výsledkom je nádor zložený z nádorových buniek a buniek, ktoré sú schopné iniciovať nádor. V nádore sú potom rôzne klonové bunky, ktoré

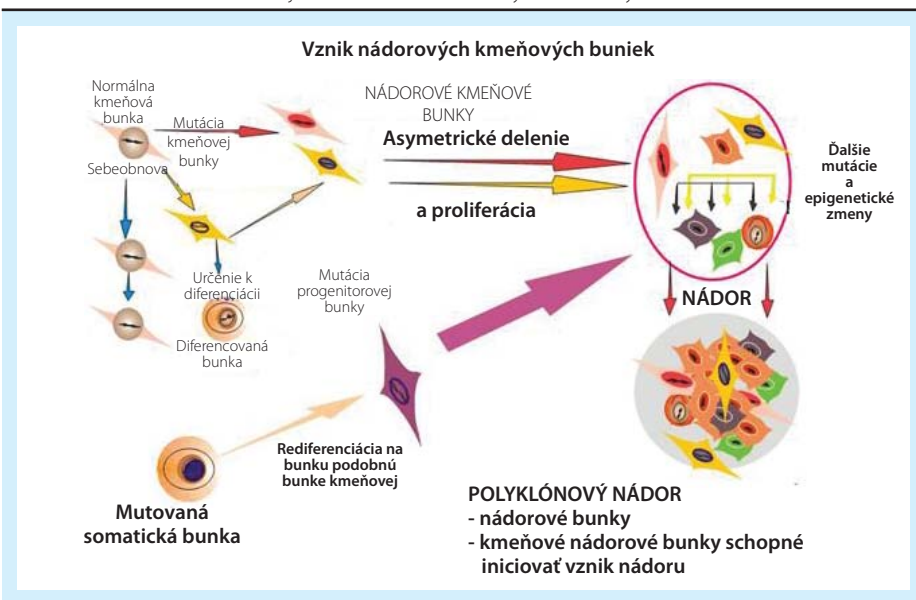
ďalšou mutáciou a epigenetickými zmenami tvoria polyklonový nádor spolu s prítomnými sebaobnovujúcimi sa kmeňovými nádorovými bunkami. Nie je vylúčený aj náhodný vznik ďalších kmeňových nádorových buniek. Existujú dôkazy, že aj diferencované bunky sa môžu zmeniť v dôsledku mutácií na bunky s vlastnosťami kmeňových buniek rediferenciáciou. Podrobnejšie vlastnosti kmeňových nádorových buniek sú popísané v literárnych prehľadoch (1, 2).

Existencia nádorových kmeňových buniek bola prvýkrát dokázaná pri leukémiách (3). Leukemické bunky vznikajú z kmeňových buniek v dôsledku poruchy v ich schopnosti diferencovať sa (obrázok 2). Zväčša sú charakterizované prítomnosťou alebo neprítomnosťou špecifických

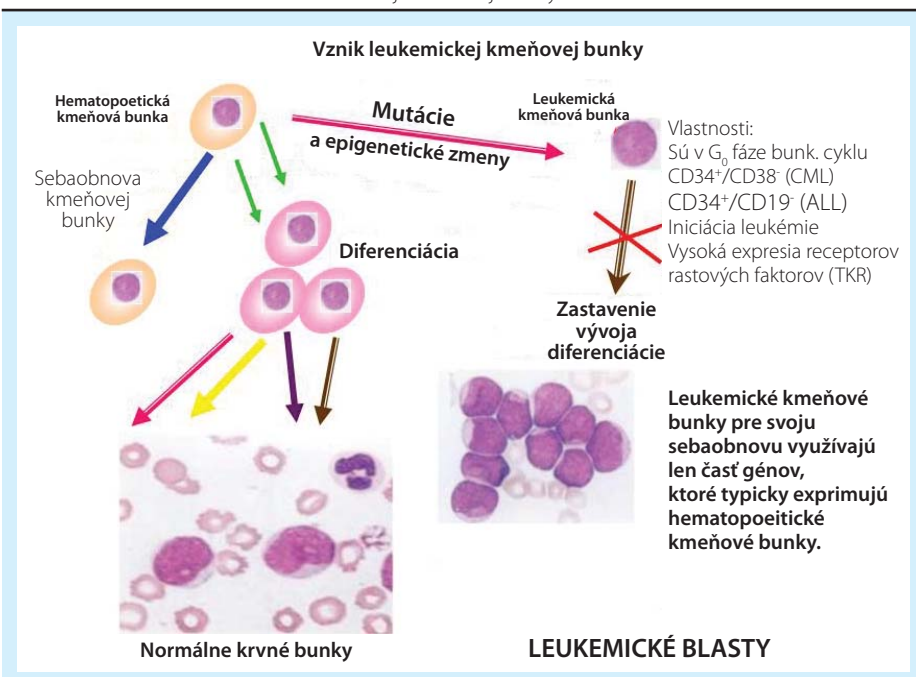
povrchových znakov. Neskôr sa podarilo identifikovať nádorové kmeňové bunky aj v nádoroch prsníka, mozgu a v ďalších typoch solídnych nádorov (4). Stále viac prevláda názor, že všetky nádory sú pôvodom z kmeňových buniek.

Objavenie nádorových kmeňových buniek má veľký dopad na súčasnú terapiu nádorov a vysvetľuje mnohé klinické pozorovania. Pozoruje sa, že nádor sa niekedy, aj o niekoľko rokov po úspešnej terapii, znova objaví a spravidla je veľmi rezistentný na ďalšiu liečbu. Je to v dôsledku prítomnosti nádoru iniciujúcich kmeňových buniek, ktoré svojou prirodzenou rezistenciou odolali účinku predchádzajúcej cytotoxickej chemoterapie, rádioterapie a molekulovej cielej terapie. Spomenuté terapie sú totiž nasmerované na deliace sa bunky, zatiaľ čo

Obrázok 1. Vznik nádoru iniciujúcich buniek – nádorových kmeňových buniek.



Obrázok 2. Vznik a vlastnosti leukemickej kmeňovej bunky.



kmeňové bunky sa len zriedkavo delia. Zlyhanie terapie môže byť spôsobené aj nedostatočnou účinnosťou cytotoxickéj terapie a genetickou instabilitou nádorových buniek. Relaps nádoru po štandardnej liečbe v dôsledku existencie nádorových kmeňových buniek je znázornený na obrázku 3. Množstvo nádor iniciujúcich buniek v nádoroch je rôzne v rozsahu, od zlomku do desiatok percent, pričom agresívnejšie nádory obsahujú týchto buniek viac (5). Veľké množstvo kmeňových buniek pri akútnej myeloidnej leukémii v čase diagnózy predikuje vysokú minimálnu reziduálnu chorobu a zlé prežívanie (6). Maligny glioblastóm predstavuje nádor s veľkým počtom nádor iniciujúcich buniek, čo korešponduje s jeho zlou prognózou. Súhrne o nádorových kmeňových bunkách v malígnych glioblastómoch pojednáva publikácia (7). Nádorové kmeňové bunky majú schopnosť putovať v organizme a vyhľadávať si vhodné miesto s im vyhovujúcim mikroprostredím, čo je spojené s vznikom metastáz.

V súčasnosti prebieha vo svete intenzívny výskum, cieľom ktorého je zistiť molekulové rozdiely

medzi normálnymi a nádorovými kmeňovými bunkami – nádor iniciujúcimi bunkami. Na základe poznania týchto odlišností by sa dala vypracovať cieľená terapia nasmerovaná na nádorové kmeňové bunky. Súčasný stav týchto aktivít je súborne dostupný (8).

Kmeňovými bunkami nasmerovaná liečba nádorov

Využitie mezenchýmových kmeňových buniek (MSC) pre terapiu nádorov je založené na zistení, že mezenchýmové kmeňové bunky izolované z kostnej drene alebo tukového tkaniva rozoznávajú nádor ako poškodenie tkaniva a putujú do miesta vznikajúceho nádoru v snahe toto poškodenie opraviť (9). Ich migračné schopnosti smerom k nádorovým bunkám sprostredkujú rozpustné faktory a zápalové signály uvoľňované z nádoru, na základe čoho sa MSC stávajú súčasťou nádorovej masy a tvoria podpornú nádorovú strúmu. Okrem toho expresia integrínov na cirkulujúcich z MSC derivovaných prekursorových bunkách podporuje adhezívne procesy k nádorovým krvným kapilá-

ram. V experimentoch sa ukázalo, že MSC sa po systémovom intravenóznom podaní integrujú do nádorov a mikroskopických nádorových lézií (10). Migračná schopnosť MSC sa dá využiť na transport liekov či génov terapiu priamo v nádore (11).

Pre terapeutické účely sa ľudské mezenchýmové kmeňové bunky dajú izolovať z kostnej drene (BM-MSC), ale aj zo stromálnej vaskulárnej frakcie adipózneho tkaniva (AT-MSC). Nenašli sa výrazné rozdiely medzi BM-MSC a AT-MSC (12). Ľahká dostupnosť z tuku izolovaných MSC a ďaleko vyšší výťažok ich uprednostňuje na použitie v terapii založenej na kmeňových bunkách. V našom laboratóriu sme dokázali a ďalší autori to potvrdili, že terapeutickými génmi modifikované AT-MSC si zachovali schopnosť migrácie do všetkých doteraz testovaných ľudských nádorov (13, 14, 15, 16).

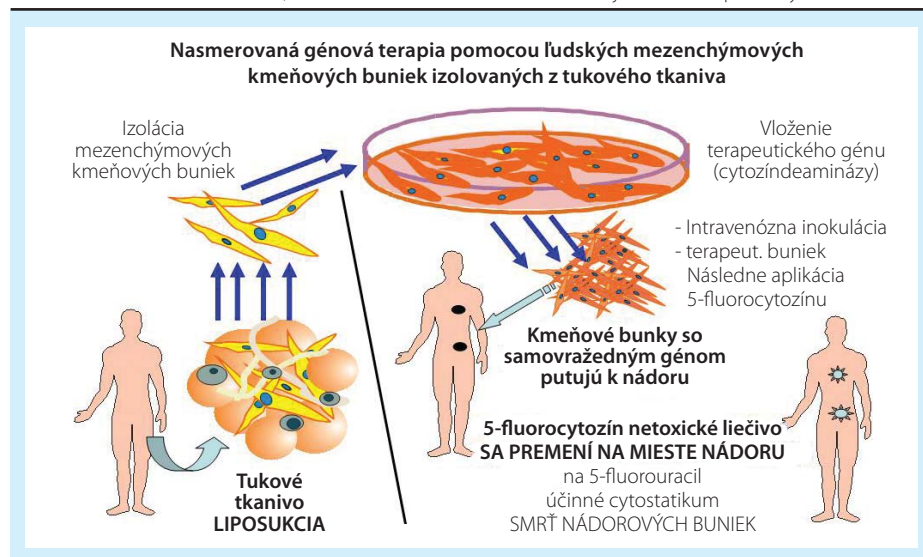
V ostatných siedmich rokoch sme ukázali v experimentoch na imunodeficientných nahých myšiach, že ľudské AT-MSC získané z liposukčného materiálu po modifikácii so samovražednými génmi, sa dajú využiť na cieľnú nádorovú génovú terapiu. Pripravili sme ľudské stromálne kmeňové bunky s integrovaným fúznym génom kvasinkového pôvodu (cytozindeamináza: fosforibosyltransferáza). Takto modifikované AT-MSC, ktoré označujeme ako terapeutické bunky CDy-AT-MSC, po intravenóznom podaní špecificky putujú do nádoru, kde konvertujú relatívne netoxické „predliečivo“ 5-fluorocytosín (Ancotil) na silný protinádorový liek 5-fluorouracil. V našich publikáciách sme ukázali, že terapeutické bunky zabíjajú ľudské nádorové bunky kolorektálneho karcinómu (14), melanómu (15) a nádorové bunky odvodené z kostnej metastázy karcinómu prostaty (16) v podmienkach *in vitro*. Súčasne v pokusoch *in vivo* sme ukázali, že dochádza k významnej inhibícii rastu nádoru po systémovej aplikácii terapeutických buniek nahým myšiam s ľudskými xenotransplantátmi týchto nádorov bez pozorovateľnej systémovej toxicity 5-fluorouracilu (14, 15, 16). Druhým často využívaným samovražedným systémom v génovej terapii je tymidínkináza vírusu *Herpes simplex* v kombinácii s ganciklovírom (HSV-tk/GCV) vhodná pre mozgové nádory. Využili sme naše včasnejšie skúsenosti s týmto systémom génovej terapie na prípravu AT-MSC exprimujúcich HSV-tk. V súlade s inými autormi (9) naše výsledky ukázali, že HSVtk-AT-MSC za prítomnosti predliečiva ganciklovíru zabíjajú bunky ľudského glioblastómu tzv. efektom zabíjanie susedných buniek (*bystander effect*) (17).

Schematicky je potenciálne využitie mezenchýmových kmeňových buniek izolovaných z tukového tkaniva na génovú terapiu cieľnú na nádor znázornené na obrázku 4.

Obrázok 3. Dôsledky existencie nádorových kmeňových buniek.



Obrázok 4. Schematické znázornenie krokov pri cielej terapii geneticky modifikovanými kmeňovými bunkami. Z liposukcie získaného tukového tkaniva sa izolujú mezenchýmové kmeňové bunky. Po namnožení buniek sa do nich vloží génový komplex cytozindeaminázy pomocou retrovirového vektora. Antibiotickou selekciou sa získa populácia terapeutických buniek, ktoré sa namnožia do dostatočného množstva. Terapeutické bunky po i. v. podaní putujú k nádorom a stávajú sa ich súčasťou. Podáva sa 5-fluorocytosín, ktorý sa na mieste nádoru mení na 5-fluorouracil, čím dochádza k likvidácii nádoru a aj k smrti terapeutických buniek.



Hlavná výhoda v použití dospelých kmeňových a/alebo progenitorových buniek ako transportných prostriedkov na liečbu nádorov spočíva v doteraz nedosiahnuteľnej terapeutickú špecifickosti. Mezenchýmové kmeňové bunky izolované z kostnej drene alebo z tukového tkaniva sa vyznačujú nádorovým tropizmom pre primárne nádory a taktiež pre metastázy, tak ako sa to ukázalo v predklinických štúdiách. O využití nádorového tropizmu mezenchýmových buniek na génovú terapiu pri využití viacerých génov je súborne diskutované v článku (18). Druhou výhodou na kmeňových bunkách založenej terapie je, že použité bunky je možné manipulovať podľa želania tak, aby prežili dlhšie alebo krátkodobo. V prípade nami používaných samovražedných génov dôjde aj k likvidácii terapeutických geneticky modifikovaných buniek po prekonaní ich vnútornej, často ďaleko vyššej, rezistencie ako majú bunky nádorové. Tretou výhodou je, že kmeňové bunky putujú v organizme k nádoru bez ohľadu na lokalizáciu, veľkosť a tkanivový pôvod. Výnimočná vlastnosť týchto buniek prekračovať krvnú mozgovú bariéru poskytuje atraktívnu možnosť liečby mozgových nádorov. Podľa doteraz známych prác ľudské mezenchýmové kmeňové bunky majú nízku imunogénnosť v dôsledku toho, že neexprimujú MHC antigény II triedy a kostimulačné molekuly (19, 20). Tým sa otvára možnosť použitia aj allogénnych terapeutických kmeňových buniek. Zaujímavé diagnostické využitie mezenchýmových buniek označených magnetickými nanopartikulami publikoval nedávno Loebinger et al. (21). Označené MSC z kostnej drene stratili svoju schopnosť putovať k nádoru, a tak bolo možné magnetickou rezonanciou diagnostikovať aj pľúcne metastázy. Podobné zistenie sme urobili aj v našom laboratóriu s AT-MS.

Záver

Dospelé mezenchýmové kmeňové bunky slúžia v organizme na opravu poškodených a opotrebovaných tkanív tela. Vyskytujú sa vo všetkých orgánoch a dajú sa izolovať z kostnej drene a vo väčšom množstve aj z tukového tkaniva. Mezenchýmové kmeňové bunky sa javia ako veľmi nádejné liečebné prostriedky pre regeneračnú terapiu celého radu závažných ľudských chorôb. Genetická modifikácia kmeňových buniek *ex vivo* s následnou transplantáciou zmenených buniek pacientovi je možná. Stratégiou takej génovej terapie je nahradiť nefunkčné, alebo zle fungujúce gény v kmeňových bunkách človeka génmi správne regulovanými a produkujúcimi normálne fungujúce bielkoviny.

Hromadia sa dôkazy o tom, že vo väčšine zhubných nádoroch sa nachádza malá populácia buniek, ktoré majú biologické vlastnosti kmeňových buniek. Nádorové kmeňové bunky – nádor iniciujúce bunky sú prirodzene rezistentné na cytostatiká a rádioterapiu. Sú zodpovedné za relaps nádorov po konvenčnej liečbe vyúsťujúcich spravidla do terapeuticky rezistentných nádorov. Množstvo nádor iniciujúcich buniek v nádoroch je rôzne – od zlomku do desiatok percent, pri čom agresívnejšie nádory obsahujú týchto buniek viac. Kmeňové nádorové bunky majú schopnosť putovať v organizme a vyhľadať si vhodné miesto s vyhovujúcim mikroprostredím, kde môžu tvoriť metastázy. Intenzívny výskum vlastností nádorových kmeňových buniek sa snaží objaviť spôsob ich cieleného ničenia, čo by mohla byť príčinná liečba nádorov.

Využitie mezenchýmových kmeňových buniek v terapii nádorov je založené na zistení, že mezenchýmové kmeňové bunky izolované z kostnej drene alebo tukového tkaniva rozoznávajú nádor ako poškodenie tkaniva a v snahe opraviť toto poškodenie putujú do miesta vznikajúceho nádoru a taktiež do metastáz. V experimentoch na imunodeficientných nahých myšiach sme ukázali, že ľudské mezenchýmové kmeňové bunky získané z liposukčného materiálu po modifikácii so samovražednými génmi sa dajú využiť na cielenú nádorovú génovú terapiu. Kmeňové bunky s integrovaným kvasinkovým génom cytozín-deaminázy po intravenóznom podaní špecificky putujú do nádoru, kde konvertujú relatívne netoxické „predliečivo“ 5-fluorocytosín (Ancotil) na silné proti nádorové liečivo 5-fluorouracil. V našich publikáciách sme ukázali, že terapeutické bunky zabíjajú ľudské nádorové bunky kolorektálneho karcinómu, melanómu a nádorové bunky odvodené z kostnej metastázy karcinómu prostaty bez pozorovateľnej systémovej toxicity 5-fluorouracilu. Kmeňovými bunkami cielená génová terapia nádorov sa javí ako nová liečebná modalita s doteraz nedosiahnuteľnou terapeutickou špecifitou.

Podakovanie

Naše štúdie kmeňovými bunkami cielennej génovej terapie nádorov finančne podporili Nadácia SPP a Liga proti rakovine.

Literatúra

- Kaplan RN, Psaila B, Lyden D. Bone marrow cells in the 'pre-metastatic niche': within bone and beyond. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 521–529.
- Soltysova A, Altanerova V, Altaner C. Cancer stem cells. *Neoplasma*. 2005; 52(6): 435–440.

- Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730–737.
- Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 3983–3988.
- Singh SK, Clarke ID, Hide T, Dirks PB. Cancer stem cells in nervous system tumors. *Oncogene* 2004; 23: 7267–7273.
- van Rhenen A, Feller N, Kelder A, Westra AH, Rombouts E, Zweegman S, van der Pol MA, Waisfisz Q, Ossenkoppele GJ, Schuurhuis GJ. High stem cell frequency in acute myeloid leukemia at diagnosis predicts high minimal residual disease and poor survival. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 6520–6527.
- Altaner C. Glioblastoma and stem cells Minireview *Neoplasma* 2008; 55(5): 369–374.
- Bin-Bing S, Zhou, Zhang H, Damelin M, Kenneth Geles KG, Grindley JC, Dirks PB. Tumour-initiating cells: challenges and opportunities for anticancer drug discovery. *Nature Views/ Drug Discovery* 2009; 8: 806–823.
- Aboody KS, Brown A, Rainov NG, Bower KA, Liu S, Yang W, Small JE, Herlinger U, Ourednik V, Black PM, Breakefield XO, Snyder EY. Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence from intracranial gliomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12846–12851.
- Aboody KS, Najbauer J, Danks MK. Stem and progenitor cell-mediated tumor selective gene therapy. *Gene Ther.* 2008; 15: 739–775.
- Studený M, Marini FC, Champlin RE, Zompetta C, Fidler IJ, Andreeff M. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles for interferon-beta delivery into tumors. *Cancer Res* 2002; 62: 3603–3608.
- Studený M, Marini FC, Dembinski JL, et al. Mesenchymal stem cells: potential precursors for tumor stroma and targeted-delivery vehicles for anticancer agents. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96:1593–1603.
- Schaffler A and C Buchler. Concise review: adipose tissue-derived stromal cells—basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells* 2007; 25: 818–827.
- Kucerova L, Altanerova V, Matuskova M, Tyciakova S, Altaner C. Adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells mediated prodrug cancer gene therapy. *Cancer Res.* 2007; 67(13): 6304–6313.
- Kucerova L, Matuskova M, Pastorakova A, Tyciakova S, Jakubikova J, Bohovic R, Altanerova V, Altaner C. Cytosine deaminase expressing human mesenchymal stem cells mediated tumour regression in melanoma bearing mice. *J Gene Med.* 2008; 10(10): 1071–1082.
- Cavarretta IT, Altanerova V, Matuskova M, Kucerova L, Culig Z, Altaner C. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells expressing prodrug-converting enzyme inhibit human prostate tumor growth. *Mol Ther.* 2010;18(1): 223–231. Epub 2009 Oct 20.
- Matuskova M, Hlubinova K, Pastorakova A, Hunakova L, Altanerova V, Altaner C, Kucerova L. HSV-tk expressing mesenchymal stem cells exert bystander effect on human glioblastoma cells. *Cancer Lett.* 2009 Sep 16. Epub ahead of print.
- Altaner C. Prodrug cancer gene therapy. *Cancer Lett.* 2008; 270: 191–201.
- Niemeyer P, Kornacker M, Mehlhorn A, Seckinger A, Vohrer J, Schmal, H, Kasten, P, Eckstein, V, Südkamp NP, Krause U. Comparison of immunological properties of bone marrow stromal cells and adipose tissue derived stem cells before and after osteogenic differentiation in vitro. *Tissue Eng* 2007; 13: 111–120.
- Hoogduijn MJ, Crop MJ, Peeters AM, Van Osch GJ, Balk AH, Ijzermans JN, Weimar W, Baan CC. Human heart, spleen, and perirenal fat-derived mesenchymal stem cells have immunomodulatory capacities. *Stem Cells and Development* 2007; 16: 597–604.
- Loebinger MR, Kyrtatos PG, Turmaine M, Price AN, Pankhurst Q, Lythgoe MF, Jones SM. Magnetic Resonance Imaging of Mesenchymal Stem Cells Homing to Pulmonary Metastases Using Biocompatible Magnetic Nanoparticles *Cancer Res* 2009; 69: 8862–8867.

doc. Ing. Čestmír Altaner, DrSc.
Ústav experimentálnej onkológie SAV
Vlárska 7, 833 91 Bratislava
cestmir.altaner@savba.sk

