

Received: 10.02.2019
Accepted: 24.07.2019
Published: 18.10.2019

Fibroblasty związane z nowotworem jako potencjalny cel terapii onkologicznej

Cancer-associated fibroblasts as a potential target in oncology therapy

Agnieszka Dominiak¹, Tomasz Nowicki², Dominika Łacheta¹, Grażyna Nowicka¹

¹Zakład Biochemii i Farmakogenomiki, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej oraz Laboratorium Biochemii i Chemii Klinicznej Centrum Badań Przedklinicznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

²Student II Wydziału Lekarskiego oraz członek SKN FARMAKON, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

Streszczenie

Guzy nowotworowe tworzą złożone środowisko, w skład którego wchodzi zarówno intensywnie proliferujące komórki nowotworowe, jak i komórki prawidłowe stanowiące ich najbliższe otoczenie. Fibroblasty rekrutowane przez nowotwór, określane jako CAF, są jednym z najliczniejszych typów komórek w mikrośrodowisku najczęstszych nowotworów. W wyniku parakrynnych oddziaływań z komórkami nowotworowymi, spoczynkowe fibroblasty podlegają fenotypowemu przeprogramowaniu i nabywają nowych, „wymuszonych” przez nowotwór funkcji. Fibroblasty o fenotypie CAF są zdolne do indukowania chemiooporności komórek raka oraz biorą udział w progresji nowotworowej, umożliwiając komórkom inwazyjny wzrost, powstanie nowych naczyń krwionośnych, ucieczkę spod nadzoru układu odpornościowego oraz kolonizację odległych narządów. Terapia celowana z użyciem preparatów ukierunkowanych przeciwko fibroblastom związanym z nowotworem stwarza potencjalne możliwości zapobiegania inicjacji, progresji i przerzutowaniu wielu inwazyjnych guzów. Dotychczasowe próby badawcze ukierunkowane na CAF opierają się na dwóch strategiach. Pierwsza z nich polega na eliminacji CAF i neutralizacji wydzielanych przez nie czynników, druga na przeprogramowaniu CAF do fenotypu spoczynkowego. Wprawdzie wyniki badań przedklinicznych, prowadzonych na hodowlach komórkowych oraz na modelach zwierzęcych, jednoznacznie wskazują, że działania ukierunkowane na zmianę/zahamowanie funkcji CAF są obiecującym tropem terapii przeciwnowotworowej, to jednak dotychczasowe badania kliniczne nie potwierdziły jednoznacznie tej koncepcji. Należy jednak zaznaczyć, że były one prowadzone u pacjentów z zaawansowanym procesem nowotworowym i nie dysponujemy badaniami z zastosowaniem tych preparatów we wczesnych fazach choroby, dlatego postuluje się kontynuację badań w tym zakresie. Zasadnym wydaje się również poszukiwanie optymalnych kombinacji preparatów nacelowanych na CAF z klasycznymi lekami przeciwnowotworowymi w celu zwiększenia skuteczności terapii.

Słowa kluczowe:

fibroblasty związane z nowotworem • mikrośrodowisko nowotworowe • terapia przeciwnowotworowa • terapię ukierunkowaną na CAF

Summary

Tumors make up a complex environment that consists of intensive proliferating cancer cells surrounded by normal cells. Fibroblasts recruited by cancer termed CAFs, are one of the major cell groups within the reactive stroma of the most common tumors. Because of the crosstalk between quiescent fibroblasts and cancer cells, fibroblasts undergo phenotypic transition and acquire new functions

that have been “forced by a tumor”. CAFs affect the development of the drug resistance and cancer progression as they are involved in the growth of cancers, neoangiogenesis, immune evasion and metastatic colonisation in distant organs. Fibroblast-directed therapy offers the opportunity to prevent initiation, progression and metastasis of many invasive tumors. The current studies on CAF-based therapy focus on two strategies. The first strategy leads to the elimination of CAFs and the neutralization of their released factors and the second aims at reverting the CAF-phenotype to a “normal” fibroblast-phenotype. Although the results of preclinical studies conducted on cell cultures and animal models indicate that therapy aimed at reversion or inhibition CAFs function seem to be a promising therapeutic target, available clinical studies have not yet confirmed this. Nevertheless, it is necessary to underline that until now CAF-based therapy has been used in patients with advanced cancer and there is no clinical study using such therapy in the early stage of cancer. The available data also indicates that CAF-based therapy could be used in combination with common anticancer drugs to increase their effectiveness. Therefore, further studies on the usefulness of the proposed CAF-based therapy are needed.

Keywords: carcinoma-associated fibroblasts • tumor microenvironment • tumor therapy • CAF-targeted therapies

GICID 01.3001.0013.5379
DOI: 10.5604/01.3001.0013.5379
Word count: 7441
Tables: –
Figures: 3
References: 94

Adres autorki: dr n. farm. Agnieszka Dominiak, Zakład Biochemii i Farmakogenomiki, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej oraz Laboratorium Biochemii i Chemii Klinicznej Centrum Badań Przedklinicznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. S. Banacha 1, 02-097 Warszawa; e-mail: adominiak@wum.edu.pl

Wykaz skrótów: **AR** – receptor androgenowy (**androgen receptor**); **Bad** – białko aktywujące apoptozę z rodziny Bcl-2 (**Bcl-2 antagonist of cell death**); **Bak** – białko aktywujące apoptozę z rodziny Bcl-2 (**Bcl-2 homologous antagonist/killer**); **Bax** – białko proapoptotyczne X związane z Bcl-2 (**Bcl-2-associated X protein**); **Bcl-2** – rodzina białek pro- i antyapoptotycznych, której nazwa pochodzi od białaczkowej linii komórkowej (**B-cell leukemia-2**); **bFGF** – podstawowy czynnik wzrostu fibroblastów (**basic fibroblast growth factor**); **BH** – domena homologiczna do Bcl-2 (**Bcl-2 homology domain**); **Bim** – białko proapoptotyczne z rodziny Bcl-2 (**Bcl-2-interacting mediator of cell death**); **CAF** – fibroblasty związane z nowotworem (**cancer-associated fibroblasts**); **CDE** – egzosomy pochodzenia CAF (**CAF-derived exosomes**); **c-Met** (HGFR) – kinaza tyrozynowa Met (**cellular mesenchymal epithelial transition factor**); **CXCL8** – interleukina-8 (**C-X-C motif chemokine ligand 8**); **CXCR4** – receptor chemokinowy typu 4 o motywie CXC (**C-X-C motif chemokine receptor 4**); **DPP-IV** – dipeptydylopeptydaza IV (**dipeptidyl peptidase IV**); **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa (**extracellular matrix**); **EGF** – naskórkowy czynnik wzrostu (**epidermal growth factor**); **FAK** – kinaza ogniskowo-adhezyjna (**focal adhesion kinase**); **FAP** – białko aktywujące fibroblasty (**fibroblast activation protein**); **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów (**fibroblast growth factor**); **FSP1** (S100A4) – białko swoiste fibroblastów 1 (**fibroblast-specific protein 1**); **Gli** – onkogen związany z glejakiem (**glioma associated oncogene**), **GR** – receptor glukokortykoidów (**glucocorticoid receptor**); **GSH** – zredukowana postać glutationu (**γ-Glu linkage and the SH group**); **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów (**hepatocyte growth factor**); **Hh** – białka hedgehog (**Hedgehog**); **IGF** – insulinopodobny czynnik wzrostu (**insulin-like growth factor**); **IGFBP** – białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu (**insulin-like growth factor-binding protein**); **JAK** – kinazy janusowe (**Janus-activated kinases**); **MMP** – metaloproteinazy macierzy (**matrix metalloproteinases**); **MRP** – białko oporności wielolekowej (**multidrug resistance-associated protein**); **mTOR** – kinaza serynowo-treoninowa ssaków hamowana przez rapamycynę (**mammalian target of rapamycin kinase**); **NF-κB** – czynnik transkrypcyjny zaangażowany w ekspresję łańcucha lekkiego typu kappa immunoglobulin (**nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells**); **NG2** – neuronalny antygen gleju 2 (**neuron-glia antigen 2**); **NOX4** – izoforma 4 oksydazy NADPH (**NADPH oxidase 4**); **PDGF** – płytkowy czynnik wzrostu (**platelet-derived growth factor**); **PDGFR** – receptor płytkowego czynnika wzrostu (**platelet-derived growth factor receptors**); **PI3K** – kinaza fosfatydilo-inozytolu 3 (**phosphoino-**

site **3-kinases**); **PKB** (Akt) – kinaza białkowa B (**protein kinase B**); **PP2A** – fosfataza białkowa 2A (**protein phosphatase 2A**); **PPAR β/δ** – receptory aktywowane przez proliferatory peroksyosomów (**peroxisome-proliferator-activated receptor β/δ**); **Ptch** – rodzina białek receptorowych szlaku Shh (**Patched**); **Puma** – modulator apoptozy regulowany przez p53 (**p53 upregulated modulator of apoptosis**); **RAR** – receptor kwasu retinowego (**retinoic acid receptor**); **ROS** – reaktywne formy tlenu (**reactive oxygen species**); **SDF-1** (CXCL12) – czynnik pochodzenia stromalnego-1 (**stromal cell-derived factor 1**); **SMO** – transbłonowe białko sygnałowe Smoothened (**smoothened transmembrane protein**); **SPARC** (BM-40) – kwasowe białko wydzielnicze bogate w cysteinę (**secreted protein acidic and cysteine rich**); **STAT** – białko pełniące funkcję przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji (**signal transducers and activators of transcription proteins**); **TGF- β** – transformujący czynnik wzrostu typu β (**transforming growth factor- β**); **TGFBRI** – receptor błonowy typu I TGF- β (**TGF-beta receptor type-1**); **VDR** – receptor witaminy D (**vitamin D receptor**); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (**vascular endothelial growth factor**); **Wnt** – białko sekrecyjne typu wingless (**Wg-wingless, Int-MMTV integrationsite**).

WSTĘP

Choroby nowotworowe są uznawane za jedną z najistotniejszych przyczyn przedwczesnych zgonów na świecie. Według szacunkowych danych Światowej Organizacji Zdrowia w 2018 r. z powodu nowotworów zmarło aż 9,6 milionów ludzi. W obliczu tych faktów, poszukiwanie nowych, nieuwzględnionych dotychczas celów terapeutycznych oraz opracowanie skutecznych środków farmakologicznych stało się priorytetem współczesnej onkologii.

Przypuszcza się, że jedną z przyczyn niezadowalającej skuteczności stosowanych obecnie farmakologicznych metod leczenia nowotworów jest pominięcie wpływu różnego typu komórek nienowotworowych występujących w zmianach chorobowych i wzajemnych oddziaływań między nimi a komórkami nowotworowymi. W mięszu guza znajduje się pula szybko proliferujących komórek nowotworowych otoczonych tkanką łączną, w której przebiegają naczynia krwionośne i chłonne. Mikrośrodowisko nowotworu tworzą fibroblasty, mogące stanowić aż do 80% masy guza i komórki śródbłonna naczyń krwionośnych, ale spotyka się tam również adipocyty, pericyty oraz makrofagi, limfocyty i inne komórki układu odpornościowego. Jednak nowotwory mogą istotnie różnić się zawartością fibroblastów w mikrośrodowisku. Nowotwory gruczołu sutkowego, stercza i trzustki zawierają znaczne ilości aktywowanych fibroblastów, podczas gdy nowotwory umiejscowione w mózgu i nerkach mają ich znacznie mniej [20, 55]. Komórki tworzące mikrośrodowisko nowotworu wchodzi w bezpośrednie interakcje z komórkami nowotworowymi oraz oddziałują z nimi pośrednio poprzez zewnątrzkomórkowe substancje aktywne. Oddziaływanie w środowisku nowotworu są dwukierunkowe, komórki mikrośrodowiska pobudzają proliferację guza, regulują neoangiogenezę oraz organizują podścielisko, jednocześnie czynniki wydzielane przez komórki nowotworowe stymulują podziały i modyfikują funkcje komórek mikrośrodowiska. Uważa się, że głównym nośnikiem informacji przekazywanej między komórkami są pęcherzyki błonowe zwane egzozomami. Sugeruje się, że procesy oddziaływań w mikrośrodowisku guza napędzają się

w wyniku dodatniego sprzężenia zwrotnego. W zależności od rodzaju bodźca, komórki podścieliska guza przyjmują różne stany aktywacji, które mogą wykazywać działanie przeciwnowotworowe, ale też i sprzyjać progresji nowotworu.

Uzyskanie fenotypu inwazyjnego przez komórki nowotworowe zależy nie tylko od oddziaływań między sąsiednimi komórkami nowotworowymi, ale również od sygnałów pochodzących z komórek zrębu. Uważa się, że poznanie złożonych procesów zachodzących w mikrośrodowisku nowotworu oraz interakcji między mikrośrodowiskiem a nowotworem może dostarczyć istotnych danych, które zmienią kierunek myślenia o terapiach onkologicznych i dadzą podstawy do udoskonalenia standardów leczenia. Ze względu na to, że fibroblasty stanowią najliczniejszą grupę komórek w mikrośrodowisku najczęstszych nowotworów [84, 92] zostały wytypowane jako istotny cel w nowatorskiej terapii onkologicznej. Na całym świecie trwają intensywne badania wyjaśnienia mechanizmu, według którego fibroblasty promują powstawanie i progresję nowotworu oraz indukują oporność na chemioterapię.

W artykule omówiono najnowsze dane ukazujące postęp w zrozumieniu roli fibroblastów w procesie rozwoju choroby nowotworowej oraz skuteczności dostępnych obecnie terapii nacelowanych na ten komponent.

CHARAKTERYSTYKA FIBROBLASTÓW

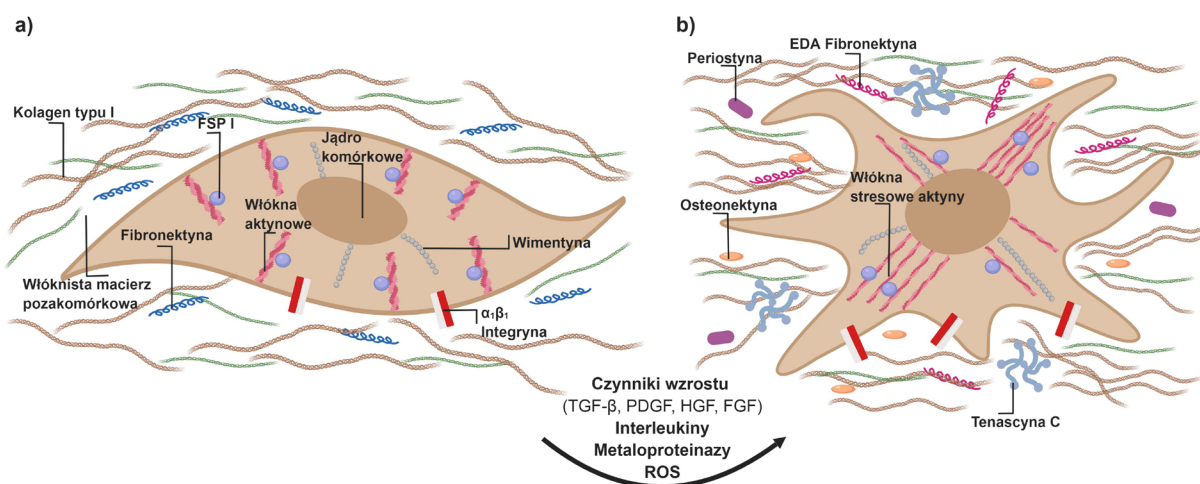
Fibroblasty rekrutowane przez nowotwór określane jako „fibroblasty związane z nowotworem” (CAF) stanowią heterogenną populację konstytutywnie aktywowanych komórek o zróżnicowanych zdolnościach do proliferacji i różnym pochodzeniu. Obserwacje w mikroskopie elektronowym wskazują, że CAF przyjmują kształt dużych gwiaździstych komórek, morfologicznie przypominających komórki mięśni gładkich (ryc. 1). W przeciwieństwie do fibroblastów o fenotypie spoczynkowym, nie podlegają apoptozie i mogą być identyfikowane za pomocą panelu białek/genów, takich jak: alfa-aktyna mięśni gładkich (α -SMA), białko swoiste dla fibroblastów 1 (FSP1 zwane również S100A4),

białko aktywujące fibroblasty (FAP), neuronalny antygen gleju 2 (NG2) czy receptor płytkowego czynnika wzrostu (PDGFR α/β). α -SMA została uznana za dotychczas najbardziej swoisty marker fibroblastów o fenotypie CAF [39, 59, 60, 62, 71]. Najnowsze badania w oparciu o metody genetyczne i immunohistochemiczne dowodzą, że insulino-podobny czynnik wzrostu wiążący proteinę-7 (IGFBP7), jest nowym markerem CAF w nowotworach pochodzenia nabłonkowego. Dostarczono dowody, że CAF wykazujące ekspresję IGFBP7, stymulują proliferację nowotworowej linii komórek raka okrężnicy [80].

Naukowcy uważają, że prekursorami CAF mogą być rezydualne fibroblasty tkankowe, mezenchymalne i hematopoetyczne komórki macierzyste, komórki nabłonkowe oraz śródbłonek. Aktywacja fibroblastów wiąże się ze swoistym różnicowaniem do miofibroblastów. Przyjmując styl stosowany do opisu polaryzacji komórek odpornościowych, wśród CAF można wyróżnić dwa funkcjonalnie podtypy. Pierwszy z nich charakteryzuje się ekspresją białka typu wingless 3a (Wnt3a), Slit2 i odnosi się do CAF hamujących wzrost nowotworu, podczas gdy fenotyp F2 opisuje CAF o właściwościach pronowotworowych. Kalluri wskazując na liczne funkcje CAF proponuje bardziej rozbudowany podział ich fenotypów. Oprócz dwóch wymienianych wyżej, opisuje podtyp F3 obejmujący CAF o wzmożonej aktywności sekrecyjnej, która warunkuje neoangiogenezę i odporność guza oraz fenotyp F4 odpowiadający za remodelowanie macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Autor sugeruje również obecność innych fenotypów (np. F5), których funkcje nie zostały jeszcze poznane [36].

Przyпуска się, że polaryzacja fibroblastów związanych z nowotworem do określonego fenotypu jest zależna w szczególności od ich pochodzenia oraz oddziaływań lokalnego środowiska. Mechanizm transformacji fibroblastów nie jest jednak poznany, a jednym z możliwych czynników wywołujących różnicowanie zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo*, jest transformujący czynnik wzrostu typu β 1 (TGF- β 1). Poprzez ścieżkę zależną od JAK1/STAT3 cytokina ta indukuje kurczenie się fibroblastów zrębowych, prowadzi do przebudowy macierzy pozakomórkowej i tworzenia ścieżek migracyjnych dla komórek nowotworowych [79]. Badania wskazują, że proces aktywacji fibroblastów zależny od TGF- β 1 jest stymulowany przez reaktywne formy tlenu (ROS) wytwarzane przez 4 izoformę oksydazy NADPH (NOX4), związaną z błoną fibroblastów [5]. Do innych czynników aktywujących fibroblasty należą płytkowy czynnik wzrostu (PDGF) i podstawowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF) [16].

Aktywny fenotyp fibroblastów wykazujący podobieństwo do CAF obserwuje się w zmianach włóknieniowych narządów oraz podczas gojenia się ran [18]. Jednak, o ile gojenie ran jest samoograniczającym się procesem, to fibroblasty związane z nowotworem podlegają stałej aktywacji, wydzielając cytokiny (np. IL-6, CXCL8, CXCL12); czynniki wzrostu (w tym TGF- β , czynnik wzrostu hepatocytów (HGF), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) lub czynnik wzrostu fibroblastów (FGF)); czynniki proangiogenne (np. czynnik wzrostu pochodzący z śródbłonna naczyniowego (VEGF)) i remodelujące mikrośrodowisko (ryc. 2). Wśród ostatniej grupy znajdują



Ryc. 1. Fibroblasty o fenotypie spoczynkowym (a) i aktywowanym (b). Fibroblasty o kształcie wrzeciona (a) ze spłaszczonym heterochromatycznym jądrem odpowiadają fenotypowi spoczynkowemu. Białka kolagenowe oraz fibronektyna są uznane za główny budulec macierzy otaczającej komórki. Poprzez powierzchniowe receptory integrynowe do wnętrza fibroblastów przekazywane są sygnały ze środowiska zewnętrznego. Mechanizm transformacji tych komórek do fenotypu aktywanego jest jak dotąd mało poznany. Uważa się, że czynniki wzrostu, takie jak TGF- β , PDGF, HGF i FGF, interleukiny, metaloproteiny i ROS mogą pośredniczyć w aktywacji fibroblastów. W wyniku transformacji, fibroblasty (b) przyjmują kształt dużych gwiaździstych komórek z euchromatycznym jądrem, szorstką siateczką endoplazmatyczną i wydajnym aparatem Golgiego; często określane są jako niedojrzałe fibroblasty. Komórki te charakteryzują się wzmożoną sekrecją kolagenu, tenascyny C, periostyny, fibronektyny z domeną EDA oraz kwaśnego białka bogatego w cysteinę (SPARC). Rycina została wykonana w programie BioRender (wg [37, 41] zmodyfikowano)

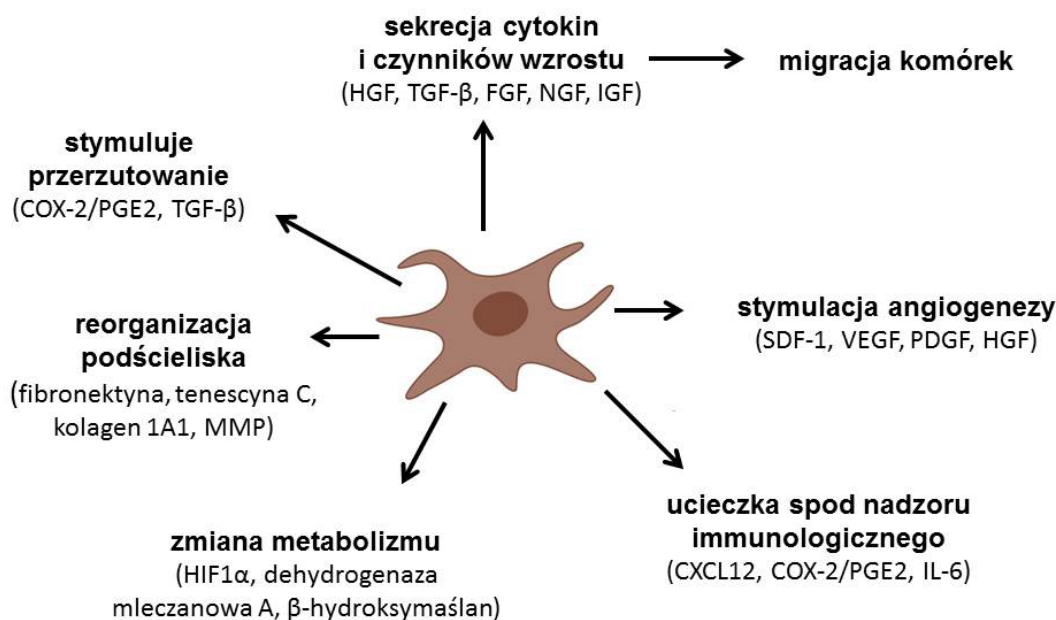
się enzymy proteolityczne, takie jak metaloproteinazy (MMPs), które w wyniku degradacji błony podstawnej i składników macierzy pozakomórkowej ułatwiają proces migracji oraz warunkują zdolność do przerzutowania [38]. Przyпуска się, że profil ekspresji proteinaz ulega zmianie wraz z progresją nowotworu [47].

Fibroblasty w mechanizmie autokrynej regulacji mogą stymulować lub podtrzymywać swoją przemianę w kierunku CAF. Stąd też nowotwory niekiedy przyrównywane są do niegojącej się rany. Uważa się, że ważną rolę w podtrzymaniu aktywacji fibroblastów w nowotworach mogą pełnić modyfikacje epigenetyczne [59], tak jak np. hipermetylacja promotora RASAL1 prowadzi do hamowania transkrypcji i zwiększonej aktywności Ras-GTP, co powoduje ciągłe pobudzenie fibroblastów [8, 34]. Badania ostatnich lat dowodzą zależnej od miRNA aktywacji fibroblastów. Wykazano, że w nowotworze jajnika funkcję tę spełnia miR-214 [51], podczas gdy miR-155 stymuluje transformację fibroblastów w nowotworze trzustki [63].

ROLA CAF W POWSTANIU I PROGRESJI NOWOTWORÓW

Liczne badania prowadzone na modelach *in vitro* i *in vivo* dowodzą istotnej roli CAF na każdym etapie kancerogenezy. Udowodniono, że bezpośrednia stymulacja komórek nowotworowych czynnikami wydzielanymi przez CAF nasila proliferację komórek guza [33, 75] oraz sprzyja przejściu nabłonkowo-mezenchymalnemu, które może spowodować zmianę niezłośliwego nowotworu w jego

agresywną postać [61, 64]. Jednym z pierwszych badań, które potwierdziły istotną rolę CAF w indukcji procesu nowotworowego był eksperyment, w którym nabłonkowe komórki stercza transfekowane wirusem Simian 40 (SV40) w połączeniu ze spoczynkowymi fibroblastami lub z CAF były wszczepiane myszom z defektem immunologicznym. Tylko w grupie zwierząt, której wszczepiono komórki nowotworowe wraz z fibroblastami związanymi z nowotworem zaobserwowano rozwijające się zmiany śródnowotworowej neoplazji stercza [57]. Ponadto wykazano, że u homozygotycznych myszy z knock-outem FSP1 (-/-), białka uznanego za jeden z bardziej swoistych markerów CAF, rzadziej dochodzi do rozwoju nowotworu po wstrzyknięciu wysoce przerzutowych komórek raka sutka niż u osobników szczepu dzikiego. U nielicznych zwierząt FSP1 (-/-), u których doszło do rozwoju procesu nowotworowego, nie wykryto ognisk przerzutowych. Podczas gdy koiniekcja fibroblastów FSP1 (+/+) z komórkami raka sutka istotnie zwiększyła częstość rozwoju guza i jego zdolność do przerzutowania [23]. Doniesienia te sugerują, że CAF są kluczowe w rozwoju procesu nowotworowego oraz niezbędne do tworzenia przerzutów. Najnowsze badania potwierdzają, że CAF zwiększają potencjał przerzutowy komórek raka płuc i wskazują na potencjalny mechanizm związany z aktywacją szlaku sygnałowego JAK2/STAT3 zależnego od IL-6. Zablockowanie szlaku IL-6/STAT3 przez przeciwciała neutralizujące IL-6 lub swoiste inhibitory JAK2/STAT3 zniosło zależną od CAF migrację komórek raka płuc oraz przeciwdziałało wywołanym zmianom w ekspresji i poziomie wimentyny, kadheryn oraz MMP [83].



Ryc. 2. Funkcje fibroblastów rekrutowanych przez nowotwór i czynniki przez nie wydzielane. CAF promują wzrost komórek nowotworowych przez wydzielanie cytokin i czynników wzrostu, reorganizują podścielisko nowotworu, wydzielając czynniki rozkładające macierz zewnątrzkomórkową i sprzyjają procesowi przerzutowania, stymulują angiogenezę przez wytwarzanie czynników proangiogennych, promują beztlenowy metabolizm komórek nowotworowych oraz umożliwiają ucieczkę spod nadzoru układu odpornościowego. Rycina została wykonana w programie BioRender (wg [20], zmodyfikowano)

Inna grupa badawcza wykazała, że wyizolowane CAF, w przeciwieństwie do fibroblastów o fenotypie spoczynkowym, indukują transformację nieściemnielonych komórek nabłonka [26]. Orimo i wsp. [58] wyjaśnili, że zależna od CAF indukcja procesu nowotworzenia jest po części wynikiem uwalniania czynnika pochodzenia stromalnego 1 (SDF-1/CXCL12). Czynniki ten wydzielany przez aktywowane fibroblasty stymuluje neoangiogenezę, rekrutuje komórki progenitorowe śródbłonka do środowiska guza oraz bezpośrednio oddziałuje na komórki nowotworowe przez stymulację receptora CXCR4 [58]. Badania ostatnich lat udowodniły, że kompleks SDF-1-CXCR4 odgrywa główną rolę w przerzutowaniu wielu typów nowotworów, w tym raka jajnika, żołądka, sutka, drobnokomórkowego raka płuca, gruczolakowego raka szyjki macicy, a także raka gruczołu krokowego [7, 13, 25, 58, 82, 90]. Połączenie SDF-1 z receptorem CXCR4 istotnie zwiększa poziom integrzyn w komórkach nowotworowych i tym samym wzmacnia ich adhezję do komórek zrębu oraz cząsteczek macierzy pozakomórkowej, co może spowodować wystąpienie oporności komórek nowotworowych na chemioterapię [25, 40]. Innym czynnikiem pośredniczącym w progresji nowotworu jest czynnik wzrostu hepatocytów (HGF). Białko to wydzielane przez aktywowane fibroblasty jest znanym ligandem receptora kinazy tyrozynowej c-Met. Wykazano, że brak receptora Met koreluje ze spadkiem inwazyjności komórek nowotworowych [46].

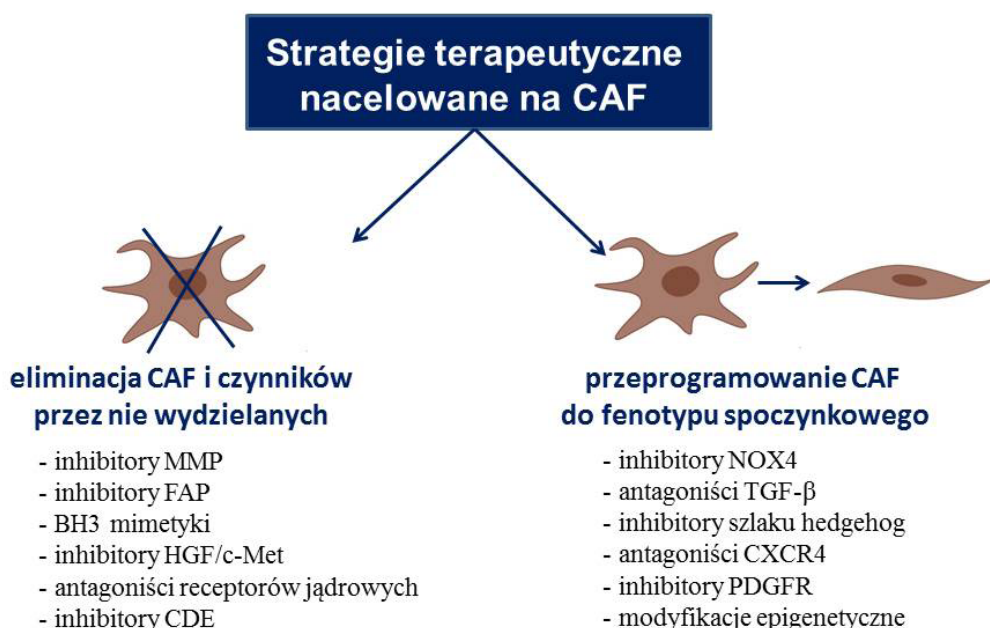
Pierwotne fibroblasty stercza narażone na stres genotoksyczny, będący następstwem podania cytotostatyków, uwalniają wiele białek, w tym białko typu wingless 16B (Wnt16B), które okazało się istotne w indukcji oporności na chemioterapię *in vivo*. Promuje przeżycie komórek nowotworowych i progresję choroby. Ekspresja Wnt16B w fibroblastach jest regulowana przez czynnik jądrowy κ B (NF- κ B), a następnie sygnały na drodze parakrynej aktywują klasyczną ścieżkę Wnt w komórkach nowotworowych. Aktywacja szlaku Wnt reguluje wiele docelowych genów kodujących białka regulujące cykl komórkowy, takich jak cyklina D1 czy c-Myc [77]. Badania na myszach wykazały, że zaburzenia Wnt1 sprzyjają rozwojowi nowotworu sutka, a nadmierna ekspresja tego genu czyni komórki odporne na działanie leków [86, 93]. Cheteh i wsp. zaproponowali inny mechanizm nabywania chemiooporności na doksorubicynę, upatrując jego przyczynę we wzmocnionej syntezie glutationu (GSH) przez fibroblasty związane z nowotworem. Autorzy sugerują, że GSH hamuje dopływ doksorubicyny do komórki nowotworowej lub promuje wpływ cytotostatyku z komórki za pomocą białek oporności wielolekowej (MRP) [12]. Wykazano również, że CAF wywodzące się z ludzkiego nowotworu płuc indukują oporność komórek nowotworowych na radioterapię [32] lub sprzyja nawrotom choroby po napromieniowaniu. CAF uwalniając insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF1/2), SDF-1 i metabolity np. β -hydroksymaślan, umożliwia przetrwanie komórek nowotworowych. Cytokiny i metabolity wydzielane przez CAF, zwiększając poziom ROS po naświetlaniu,

aktywują białkową fosfatazę 2A (PP2A), która hamuje kinazę serynowo-treoninową mTOR, będącą negatywnym regulatorem autofagii. Aktywacja tego procesu w nietransformowanych komórkach mikrośrodowiska guza dostarcza metabolitów pośrednich do utrzymania podstawowych procesów energetycznych komórki nowotworowej. Wykazano, że zarówno przeciwciała neutralizujące IGF2 jak i inhibitor autofagii (3-metyloadenina) ograniczają zależny od CAF przyrost masy guza po radioterapii [85].

W opozycji do tak licznych doniesień wskazujących na pronowotworowe skutki działania CAF są nieliczne artykuły przemawiające za ich przeciwnowotworowymi właściwościami. Ich autorzy podkreślają konieczność zachowania szczególnej ostrożności wprowadzając nowatorskie terapie. Podkreślają, że wydzielane przez CAF cytokiny, chemokiny i inne czynniki mogą sprzyjać rekrutacji komórek wrodzonego układu odpornościowego i nasilać ich cytotoksyczność wobec komórek nowotworowych [94]. Wykazano, że TGF- β oprócz opisanych wcześniej właściwości pronowotworowych, może również hamować inicjację guza i wczesny wzrost nowotworu [9, 74]. Özdemir i wsp. zaobserwowali, że myszy transgeniczne z nowotworem trzustki oraz zmniejszoną liczbą miofibroblastów α SMA charakteryzuje nasilenie inwazyjności guza i istotne skrócenie czasu ich życia. Autorzy sugerują, że zwłóknienie związane z przyrostem miofibroblastów w nowotworze trzustki jest raczej odpowiedzią ochronną niż czynnikiem sprzyjającym nowotworzeniu [62]. Ponadto, Chang i wsp. wykazali, że fibroblasty związane z nowotworem gruczołu sutkowego wydzielają cząsteczki Slit2. Są to ligandy receptora obecnego na powierzchni komórek nowotworowych Robo1. Aktywacja Robo1 blokuje translokację β -kateniny do jądra i prowadzi – za pośrednictwem ścieżki sygnałowej kinazy 3-fosfotydyloinozytolu i kinazy białkowej Akt (PI3K/Akt) – do obniżenia poziomu c-Myc oraz cykliny D1, zmniejszając złośliwość komórek nowotworowych [11]. Okazuje się, że sygnalizacja stymulowana przez Slit2 hamuje również pronowotworowy szlak sygnałowy SDF1/CXCR4 [48].

PERSPEKTYWY TERAPII UKIERUNKOWANEJ NA CAF

Terapia celowana z użyciem preparatów ukierunkowanych przeciwko fibroblastom związanym z nowotworem stwarza potencjalne możliwości zapobiegania inicjacji, progresji i przerzutowaniu wielu inwazyjnych guzów. Terapie tego typu są przedmiotem badań eksperymentalnych i klinicznych. Dotychczasowe próby badawcze skupiają się na dwóch strategiach (ryc. 3). Pierwsza z nich prowadzi do eliminacji CAF i wydzielanych przez nie czynników np. przez kierowanie aktywowanych fibroblastów na szlak apoptozy. Druga strategia polega na przeprogramowaniu CAF do fenotypu spoczynkowego z użyciem preparatów neutralizujących czynniki aktywujące fibroblasty oraz hamujących szlaki charakterystyczne dla aktywowanych fibroblastów [20].



Ryc. 3. Podejścia terapeutyczne ukierunkowane na CAF

Inhibitory MMP

Na początku lat 90. ubiegłego wieku, wraz z identyfikacją MMP jako istotnych czynników w progresji nowotworu i jako wskaźników rokowniczych choroby, rozpoczęto intensywne badania nad zastosowaniem inhibitorów MMP w terapii. Podjęto próby opracowania potencjalnych farmaceutyków o budowie analogicznej do substratów enzymów proteolitycznych. Związki te współzawodniczą z substratem o miejsce aktywne i chelatuja jony cynku wchodzące w skład enzymu, zmniejszając tym samym jego aktywność. Batimastat (BB-94), pierwszy kompetycyjny i szeroko spektralny inhibitor MMP, okazał się skuteczny w hamowaniu inwazji komórek ludzkiego raka trzustki wywodzącego się z dróg wątrobowych (linia Capan-1) i z przerzutów dootrzewnowych (linia AsPC1). Jednocześnie wykazano, że BB-94 zmniejszył liczbę przerzutów do wątroby i ograniczył śmiertelność bezgranicznych myszy z nowotworem wywołanym iniekcją komórek linii Capan-1. Mniejszą skuteczność batimastatu zaobserwowano w nowotworze indukowanym linią AsPC1 [35]. Ograniczeniem w skuteczności batimastatu była jego słaba rozpuszczalność i bardzo mała biodostępność, dlatego badania kliniczne fazy III zostały przerwane na rzecz nowszego, chemicznego analogu – marimastatu. Niestety, związek ten wykazywał niewielką skuteczność, a ciężkie objawy niepożądane ze strony układu mięśniowo-szkieletowego uniemożliwiły zwiększenie dawki. Dalsze badania nad lekiem zostały więc wstrzymane [14, 21, 67, 72]. Chcąc zminimalizować działania niepożądane towarzyszące tego typu terapii rozpoczęto badania nad selektywnymi inhibitorami MMP oraz podjęto próby

modyfikacji systemów dostarczania leków. W badaniach na myszach zaobserwowano, że DX-2400, będący monoklonalnym przeciwciałem selektywnie hamującym MMP-14, znacząco ograniczył wzrost nowotworu sutka i zmniejszył liczbę przerzutów do płuc oraz wątroby [15]. Dotychczas nie rozpoczęto jeszcze badań klinicznych nad tym lekiem. Trwają również prace nad mysim przeciwciałem monoklonalnym REGA-3G12 skierowanym przeciwko domenie katalitycznej MMP-9, ale pozostającym bez wpływu na wysoce homologiczną MMP-2 [49].

Inhibitory FAP

Białko FAP ulega selektywnej nadekspresji w aktywowanych fibroblastach pochodzących z guza nowotworowego (czerniak, rak jelita grubego, trzustki oraz sutka) i jest niewykrywalne w prawidłowych tkankach [81, 87]. W badaniach *in vitro* wykazano, że FAP charakteryzuje się aktywnością peptydazy dipeptydydowej i działa podobnie do kolagenaz, przebudowując ECM, aby wytworzyć miejsce dla rozwijającej się patologicznej struktury [3, 4, 54]. Val-boro-Pro (PT-100, Talobostat) jest pierwszym kompetycyjnym inhibitorem aktywności peptydazy dipeptydydowej IV (DPP-IV) dopuszczonym do zastosowań klinicznych. Badania *in vivo* wykazały, że Val-boro-Pro w modelach zwierzęcych hamował rozwój czerniaka, chłoniaka, guza z komórek tucznych (mastocytoma) i włókniakomięsaka [1]. Uzyskano również obiecujące wyniki terapii skojarzonej PT-100 z oksaliplatyną, w której zaobserwowano zahamowanie wzrostu guza oraz zwiększoną przeżywalność zwierząt w syngenicznym modelu nowotworu jelita grubego [43]. Wykazano również, że

u myszy terapia PT-100 w połączeniu z powszechnie stosowanymi chemioterapeutykami, w tym cisplatyną, paklitaksellem, gemcytabiną i 5-fluorouracylem wykazuje synergizm działania [2]. Jednak badania kliniczne prowadzone w 28-osobowej grupie pacjentów z nowotworem jelita grubego w fazie metastatycznej zakończyły się niepowodzeniem, wskazując na brak efektów klinicznych preparatu [28, 52]. Nie zaobserwowano również skutków działania przeciwciała swoiście wiążącego się z FAP (sibrotuzumab – BIBH 1) u pacjentów w zaawansowanym stadium nowotworu jelita grubego [29]. W kolejnym etapie, w badaniach z użyciem zwierząt, podjęto próby indukcji odpowiedzi immunologicznej przeciw antygenom FAP. Podanie myszom doustnej szczepionki zawierającej cDNA kodujące FAP prowadziło do zależnego od limfocytów T CD8+ zahamowania wzrostu nowotworów sutka i jelita grubego. Wykazano, że jednoczesne zastosowanie szczepionki i doksorubicyny trzykrotnie wydłużyło życie zwierząt, a u 50% z nich doszło do odrzucenia przeszczepionych komórek nowotworowych. U immunizowanych myszy obserwowano również zwiększenie wychwytu doksorubicyny przez oporny na chemioterapię nowotwór gruczołu sutkowego [44]. Badania na zwierzętach wykazały, że zastosowanie monoklonalnego przeciwciała anty-FAP sprzężonego z majtanzyną (FAP5-DM1) doprowadziło do całkowitej regresji wzrostu guza w modelach ksenograficznych raka płuc, trzustki oraz głowy i szyi [80].

Inhibitory HGF/c-Met

HGF jest czynnikiem wzrostu wydzielanym przez fibroblasty i zarazem ligandem receptorów c-Met. Aktywacja tych receptorów zwiększa tempo proliferacji komórek. Ze względu na to, że w nowotworowych opisano nieprawidłową aktywację osi HGF/c-Met, powstała w wyniku mutacji, amplifikacji czy nadekspresji białka, przekazywanie sygnału przez kinazę c-Met zostało uznane za klinicznie ważny cel terapeutyczny. Próby blokady HGF przez zastosowanie przeciwciał monoklonalnych, AMG-102 (rilotumumab) i AV-299 (fiklatuzumab), były przedmiotem badań klinicznych, jednak ich skuteczność nie została potwierdzona. Nowe inhibitory kinazy tyrozynowej Met, takie jak tiwantynib, kabozantynib i kryzotynib są w fazie badań [80].

BH3 mimetyki (związki naśladujące aktywność białek BH3)

Białka zawierające pojedynczą domenę Bcl-2-homologiczną zwane „BH3-only” (zwłaszcza Bad, Bim, Puma) przez bezpośrednią aktywację proapoptotycznych białek Bax i Bak lub pośrednio przez oddziaływanie z antyapoptotycznymi białkami podrodziny Bcl-2, wzmacniają w komórce sygnał apoptotyczny. Aktywowane białko Bak lub Bax oligomeryzuje i kolejno w postaci multimetru wbudowuje się w błonę mitochondrialną, co zwiększa jej przepuszczalność i ostatecznie prowadzi do śmierci komórki. BH3 mimetyki zakłócają tworzenie heterodimerów Bcl-2/Bak i Bcl-2/Bax uwalniając proapoptotyczne białka zdolne do permeabilizacji błony [73].

Wykazano, że rekrutowane przez nowotwór fibroblasty nie wykazują ekspresji antyapoptotycznej proteiny Mcl-1 i charakteryzują się zwiększoną ekspresją Bax, co sugeruje ich wrażliwość na dodatkowe sygnały inicjujące apoptozę [50]. Badania z wykorzystaniem cząsteczki ABT-199, będącą selektywnym inhibitorem Bcl-2, wykazały, że mimetyk ten indukuje apoptozę w CAF, nie wpływając na żywotność fibroblastów spoczynkowych. ABT-199 zmniejsza również proliferację guza w mysim modelu nowotworu dróg żółciowych [50, 68], pozostając bez wpływu na homeostazę Ca^{2+} w prawidłowych komórkach graniastych trzustki [31].

Antagoniści receptorów jądrowych

Ligandy receptorów jądrowych mogą modulować profil cytokin wydzielanych przez CAF i pośrednio wpływać na hamowanie rozrostu nowotworu oraz wrażliwość na chemioterapię. Ocena zmian ekspresji receptorów jądrowych w komórkach CAF pochodzących od pacjentów z płaskonabłonkowym nowotworem skóry wykazała, że RAR β (receptor kwasu retinowego), PPAR β/δ (receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów), VDR (receptor witaminy D), GR (receptor glukokortykoidów) i AR (receptor androgenowy) są głównymi receptorami modulującymi inwazyjność, proliferację, metabolizm energetyczny oraz odpowiedź na chemioterapię. Badania na mysim modelu ksenograficznym wykazały, że antagoniści RAR β (LE135) oraz AR (bikalutamid) podane z cisplatyną opóźniły rozwój guza i uwrażliwiły nowotwór na chemioterapeutyk. Sugeruje to, że modulowanie ekspresji receptorów jądrowych w komórkach fibroblastów związanych z nowotworem może istotnie wpłynąć na skuteczność chemioterapii [10].

Inhibitory egzosomów pochodzenia CAF (CDE)

Badania ostatnich lat wskazują na zasadniczą rolę egzosomów w modulacji międzykomórkowych interakcji oraz odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciw nowotworom. Materiał genetyczny w postaci miRNA, mRNA, a także białka, lipidy i inne aktywne makromolekuły upakowane w małych pęcherzykach zewnątrzkomórkowych, mogą być pobierane zarówno przez sąsiadujące komórki, jak i komórki znacznie odległe. Egzozomy pochodzące z CAF, nazywane CDE, dostarczają również komórkom nowotworowym związków pośrednich cyklu Krebsa i wpływają w ten sposób na wzrost guza, nawet w warunkach niedoboru składników odżywczych. Mechanizm przekazania informacji w mikrośrodoisku guza z wykorzystaniem egzosomów może się odbywać w wyniku bezpośredniej stymulacji komórki docelowej czy przeprogramowania epigenetycznego. Ze względu na udowodniony udział egzosomalnego miRNA w procesie migracji i inwazji komórek nowotworowych, neoangiogenezie, powstawaniu przerzutów oraz lekooporności, może być wykorzystany do opracowania nowych strategii terapii przeciwnowotworowych. Sugeruje się, że przez neutralizację wydzielanych egzosomów czy też zahamowanie ich sekrecji, zaburzona zostanie komunikacja w mikrośrodo-

wisku guza. Inną potencjalną strategią może być modyfikacja informacji jaką przenoszą egzosomy. W fazie badań jest opracowanie szczepionki zawierającej egzosomy pochodzące z komórek dendrytycznych, które przez aktywację limfocytów T oraz komórek NK nasilą odpowiedź przeciwnowotworową [66, 76].

Inhibitory NOX4

Proces aktywacji fibroblastów do fenotypu CAF jest zależny od ROS wytwarzanych przez NOX4 związaną z błoną fibroblastów. Najnowsze badania eksperymentalne wykazały, że podanie inhibitorów NOX4 do CAF wyizolowanych z ludzkich nowotworów głowy i szyi, płuc oraz stercza istotnie zmniejsza wewnątrzkomórkowy poziom ROS, obniża ekspresję α -SMA, a także znosi zależną od CAF migrację komórek nowotworowych [24, 69]. Wyciszenie ekspresji NOX4 w ludzkich liniach nowotworowych raka żołądka zahamowało ich adhezję i inwazję [19].

Antagoniści TGF- β

Podjęto również próby terapeutyczne neutralizacji TGF- β , odpowiedzialnego za transformację fibroblastów do fenotypu CAF. Badania przedkliniczne, w których podskórnym podawano zwierzętom genetycznie zmodyfikowane komórki nowotworowe z wbudowaną sekwencją antysensową genu TGF- β 2, wykazały zwiększoną przeżywalność myszy z glejakami śródczaszkowymi w porównaniu do grupy zwierząt immunizowanych pustym wektorem [17]. Podobne wyniki zaobserwowano u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc w badaniu fazy II, w którym immunizację przeprowadzono z użyciem belagenpumatucelu-L, zawierającego allogeniczne komórki nowotworowe z wbudowaną sekwencją antysensową genu TGF- β 2 [53]. Badania eksperymentalne na hodowlach komórkowych 2D wykazały, że pirfenidon, lek o działaniu antyfibrotycznym i jednocześnie antagonistą TGF- β , obniżał żywotność CAF oraz istotnie zmniejszał ilość wytwarzanego przez nie kolagenu. Mimo uzyskania tak obiecujących rezultatów w badaniach *in vitro*, okazało się, że po podaniu zwierzętom pirfenidonu obserwowano zahamowanie włóknienia nowotworu i zmniejszoną sygnalizację TGF- β -zależną, jednak nie obserwowano wpływu na wzrost guza i tworzenie nowych nisz metastatycznych. Podkreśla się, że skutek wprowadzonych zmian w sygnalizacji TGF- β -zależnej może być odmienny w różnych typach nowotworów [80]. Pirfenidon stosowany w połączeniu z doksorubicyną wykazywał działanie synergistyczne, istotnie hamując wzrost nowotworu oraz przerzuty do płuc. Koncepcja leczenia skojarzonego polegającego na jednoczesnym podawaniu cytostatyku i pirfenidonu wydaje się obiecującym kierunkiem przyszłych badań [42, 78]. Ponadto, kliniczne zastosowanie inhibitora kinazy receptora błonowego typu I dla TGF- β (TGFBRI) - LY2157299 przyniosło obiecujące wyniki u chorych z glejakiem, rakiem wątrobowokomórkowym i zaawansowanym nowotworem trzustki [80].

Inhibitory szlaku hedgehog

Nadekspresja białka Hedgehog (Hh) na błonie komórek nowotworowych pobudza je autokrynnie do proliferacji; oddziałuje również parakrynnie i aktywuje komórki mikrośrodowiska guza. Zapoczątkowanie szlaku Hedgehog następuje w wyniku połączenia aktywnego białka Hh z receptorem Ptch i kolejno aktywację białka Smoothened (SMO), co prowadzi do rozszczepienia białek Gli, które aktywują geny docelowe szlaku. Mutacja składowych szlaku lub przedostania się całego białka Gli do jądra pobudza proliferację. Zahamowanie sygnalizacji Hh z użyciem małowcząsteczkowych inhibitorów, przeciwciał anty-Hh i genetycznej delecji SMO w zrębie nowotworu myszy ograniczyło wzrost guza i zatrzymało rozwój choroby nowotworowej [91]. Wykazano również, że zablokowanie szlaku sygnałowego hedgehog z użyciem IPI-926 zmniejszyło objętość tkanki zrębowej guza w zwierzęcym modelu raka trzustki. Terapia skojarzona IPI-926 z gemcytabiną spowodowała przejściowy wzrost unaczynienia guza i istotnie zwiększyła stężenie cytostatyku w tkance nowotworowej myszy z chemioopornym nowotworem trzustki [56]. Badania kliniczne obejmujące 104 pacjentów z objawowym rakiem podstawno-komórkowym z przerzutami lub zaawansowanym miejscowo potwierdziły skuteczność wismodegibu, drobnocząsteczkowego inhibitora SMO. Redukcję masy guza stwierdzono u około 33% pacjentów z chorobą przerzutową oraz u 48% pacjentów z chorobą miejscowo zaawansowaną. W 2013 r. wismodegib został dopuszczony do leczenia z zarejestrowanym wskazaniem do stosowania u chorych z rakiem podstawnokomórkowym (<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/erivedge>).

Antagoniści CXCR4

CAF promuje inwazję komórek nowotworowych m.in. poprzez sygnalizację CXCL12/CXCR4, która pobudza receptory integrynowe FAK/ β -1 na komórkach nowotworowych. Wykazano, że zastosowanie antagonisty CXCR4 – AMD3100 istotnie zmniejszyło inwazję pierwotnych komórek raka żołądka [30]. Trwają testy nad kliniczną skutecznością konkurencyjnych ligandów i przeciwciał CXCR4 [22, 89].

Inhibitory PDGFR

PDGF jest jednym z czynników o właściwościach proangiogennych, uwalnianych do mikrośrodowiska guza. PDGF wykazuje silne powinowactwo do receptora PDGFR, którego zwiększoną ekspresję opisano na fibroblastach. Przez aktywację dimerycznych receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej, płytkowy czynnik wzrostu stymuluje proliferację i indukuje przemianę fibroblastów do fenotypu aktywowanego. Wzmoczoną transdukcję sygnału przez PDGFR powiązano również z nasiloną migracją i inwazją komórek nowotworowych oraz ich opornością na chemioterapię. Udowodniono, że podawanie myszom z różnymi typami guzów litych

antagonistów PDGF zmniejszyło ciśnienie płynu śródmiąższowego i jednocześnie zwiększyło wychwyt chemioterapeutyków [27]. Imatynib to jeden z pierwszych inhibitorów kinaz tyrozynowych PDGFR, który – jak wykazano – hamuje proliferację guza i neoangiogenezę w mysim modelu ludzkiego raka szyjki macicy [65, 80]. Crenolanib, selektywny inhibitor PDGFR, jest obecnie przedmiotem badań klinicznych [27].

Modyfikacje epigenetyczne

Profile ekspresji miRNA CAF i fibroblastów o fenotypie spoczynkowym, pochodzących od tego samego pacjenta, wykazały istnienie znacznych różnic. Zaobserwowano, że w nowotworze jajnika podczas transformacji fibroblastów dochodzi do zmian ekspresji miR-31, miR-214 i miR-155 [51]. Zwiększona ekspresja miR-106b sprzyja migracji komórek nowotworowych żołądka, a nadekspresja R-21 jest charakterystyczna dla nowotworu jelita grubego. Skuteczne blokowanie lub suplementacja kluczowych miRNA, wpływając na różne szlaki sygnałowe i metaboliczne, może spowodować przekształcenia CAF w fibroblasty o fenotypie spoczynkowym. Niska ekspresja miR-148a została uznana za marker przerzutowy dla wielu typów nowotworów. Udokumentowano również związek między wyciszeniem miR-148a a zdolnością nowotworu do tworzenia przerzutów [45]. Hamowanie miR148a, przez nasiloną sekrecję białka typu wntless 10B (Wnt10B), stymulowało migrację komórek raka endometrium w badaniach *in vitro*. Ekspozycja komórek linii nowotworowych na działanie 5-aza-2'-deoksycytyny (5-azaC) stymulowała ekspresję miR-148a w CAF, a to hamowało migrację komórek nowotworowych [6, 88]. Wczesne leczenie agresywnego mysiego nowotworu trzustki za pomocą czynnika demetylującego DNA (5-azaC) spowolniło progresję nowotworu i znacznie wydłużyło czas przeżycia zwierząt [70].

PODSUMOWANIE

Jednym z najtrudniejszych wyzwań współczesnej medycyny jest leczenie pacjentów z chorobą nowotworową, zwłaszcza w zaawansowanym jej stadium. Mechanizm klasycznej chemioterapii polega na niszczeniu populacji

szybko dzielących się komórek danego typu nowotworu, z pominięciem wpływu komórek tworzących mikrośrodowisko guza i powstałych interakcji między nimi. Obecnie CAF postrzegane są jako integralna część nowotworu, która zapewnia architektoniczne wsparcie komórkom nowotworowym, a także istotnie wpływa na ich funkcje i metabolizm oraz odpowiedź na terapię. Dlatego jednoczesne ukierunkowanie leczenia zarówno przeciwko komórkom raka jak i zrębu guza wydaje się racjonalnym sposobem działania terapeutycznego.

Wiedza o roli fibroblastów w progresji nowotworów jest podstawą opracowywanych nowych strategii terapeutycznych. Prowadzone badania ukierunkowane są na eliminację CAF i czynników przez nie wydzielanych (np. egzozosomów) do środowiska nowotworu lub ich prze-programowaniu do fenotypu spoczynkowego. W ciągu ostatnich kilku lat opublikowano wiele prac dotyczących roli egzozosomów w procesie nowotworowym, co świadczy o dużym zainteresowaniu środowiska naukowego tą tematyką. Wyniki dotychczasowych badań przedklinicznych prowadzonych na hodowlach komórkowych oraz na modelach zwierzęcych jednoznacznie wskazują, że działania ukierunkowane na zmianę/zahamowanie funkcji CAF wydają się obiecującym tropem terapii przeciwnowotworowej. Analiza przeprowadzonych dotychczas badań klinicznych nie potwierdza obserwowanej w badaniach przedklinicznych skuteczności wielu preparatów nacelowanych na CAF. Należy jednak zauważyć, iż badania te były prowadzone u pacjentów z zaawansowaną chorobą i brak jest badań z zastosowaniem preparatów nacelowanych na CAF we wczesnych fazach choroby nowotworowej, stąd też wyłania się pilna potrzeba kontynuacji tych badań. Zasadnym wydaje się również podjęcie prób optymalizacji terapii złożonej z zastosowaniem preparatów nacelowanych na CAF i innych środków terapeutycznych w leczeniu pacjentów z chorobą nowotworową. Ponadto dogłębna i spersonalizowana charakterystyka profilu CAF oraz innych badań w zakresie mikrośrodowiska nowotworu może się okazać podstawą do identyfikacji kolejnych celów terapeutycznych oraz opracowania nowych, efektywnych metod terapii przeciwnowotworowych.

PIŚMIENICTWO

[1] Adams S.J., Jones B.: Enhanced anti-tumor activity of dipeptidyl peptidase inhibitor PT-100 in combination with chemotherapy in mice. *Cancer Res.*, 2004; 64: 882

[2] Adams S., Miller G.T., Jesson M.I., Watanabe T., Jones B., Wallner B.P.: PT-100, a small molecule dipeptidyl peptidase inhibitor, has potent antitumor effects and augments antibody-mediated cytotoxicity via a novel immune mechanism. *Cancer Res.*, 2004; 64: 5471–5480

[3] Aertgeerts K., Levin I., Shi L., Snell G.P., Jennings A., Prasad G.S., Zhang Y., Kraus M.L., Salakian S., Sridhar V., Wijnands R., Tennant M.G.: Structural and kinetic analysis of the substrate specificity of human fibroblast activation protein α . *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 19441–19444

[4] Aggarwal S., Brennen W.N., Kole T.P., Schneider E., Topaloglu O., Yates M., Cotter R.J., Denmeade S.R.: Fibroblast activation protein peptide substrates identified from human collagen I derived gelatin cleavage sites. *Biochemistry*, 2008; 47: 1076–1086

[5] Amara N., Goven D., Prost F., Muloway R., Crestani B., Boczkowski J.: NOX4/NADPH oxidase expression is increased in pulmonary fibroblasts from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and mediates TGF β 1-induced fibroblast differentiation into myofibroblasts. *Thorax*, 2010; 65: 733–738

[6] Aprelikova O., Palla J., Hibler B., Yu X., Greer Y.E., Yi M., Stephens R., Maxwell G.L., Jazaeri A., Risinger J.L., Rubin J.S., Niederhuber J.: Silencing of miR-148a in cancer-associated fibroblasts results in WNT10B-mediated stimulation of tumor cell motility. *Oncogene*, 2013; 32: 3246–3253

[7] Balkwill F.: Cancer and the chemokine network. *Nat. Rev. Cancer*, 2004; 4: 540–550

[8] Bechtel W., McGoohan S., Zeisberg E.M., Müller G.A., Kalbacher H., Salant D.J., Müller C.A., Kalluri R., Zeisberg M.: Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney. *Nat. Med.*, 2010; 16: 544–550

- [9] Bhowmick N.A., Chytil A., Plieth D., Gorska A.E., Dumont N., Shappell S., Washington M.K., Neilson E.G., Moses H.L.: TGF- β signaling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adjacent epithelia. *Science*, 2004; 303: 848-851
- [10] Chan J.S., Sng M.K., Teo Z.Q., Chong H.C., Twang J.S., Tan N.S.: Targeting nuclear receptors in cancer-associated fibroblasts as concurrent therapy to inhibit development of chemoresistant tumors. *Oncogene*, 2018; 37: 160-173
- [11] Chang P.H., Hwang-Versluis W.W., Chang Y.C., Chen C.C., Hsiao M., Jeng Y.M., Chang K.J., Lee E.Y., Shew J.Y., Lee W.H.: Activation of Robo1 signaling of breast cancer cells by Slit2 from stromal fibroblast restrains tumorigenesis via blocking PI3K/Akt/ β -catenin pathway. *Cancer Res.*, 2012; 72: 4652-4661
- [12] Cheteh E.H., Augsten M., Rundqvist H., Bianchi J., Sarne V., Egevad L., Bykov V.J., Östman A., Wiman K.G.: Human cancer-associated fibroblasts enhance glutathione levels and antagonize drug-induced prostate cancer cell death. *Cell Death Dis.*, 2017; 8: e2848
- [13] Cooper C.R., Chay C.H., Gendernalik J.D., Lee H.L., Bhatia J., Taichman R.S., McCauley L.K., Keller E.T., Pienta K.J.: Stromal factors involved in prostate carcinoma metastasis to bone. *Cancer*, 2003; 97: 739-747
- [14] Coussens L.M., Fingleton B., Matrisian L.M.: Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science*, 2002; 295: 2387-2392
- [15] Devy L., Huang L., Naa L., Yanamandra N., Pieters H., Frans N., Chang E., Tao Q., Vanhove M., Lejeune A., van Gool R., Sexton D.J., Kuang G., Rank D., Hogan S. i wsp.: Selective inhibition of matrix metalloproteinase-14 blocks tumor growth, invasion, and angiogenesis. *Cancer Res.*, 2009; 69: 1517-1526
- [16] Elenbaas B., Weinberg R.A.: Heterotypic signaling between epithelial tumor cells and fibroblasts in carcinoma formation. *Exp. Cell Res.*, 2001; 264: 169-184
- [17] Fakhrai H., Dorigo O., Shawler D.L., Lin H., Mercola D., Black K.L., Royston I., Sobol R.E.: Eradication of established intracranial rat gliomas by transforming growth factor β antisense gene therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 2909-2914
- [18] Ferrari N., Calvo F.: Tumor microenvironment: unleashing metalloproteinases to induce a CAF phenotype. *Curr. Biol.*, 2014; 24: R1009-R1011
- [19] Gao X., Sun J., Huang C., Hu X., Jiang N., Lu C.: RNAi-mediated silencing of NOX4 inhibited the invasion of gastric cancer cells through JAK2/STAT3 signaling. *Am. J. Transl. Res.*, 2017; 9: 4440-4449
- [20] Gascard P., Tlsty T.D.: Carcinoma-associated fibroblasts: orchestrating the composition of malignancy. *Genes Dev.*, 2016; 30: 1002-1019
- [21] Gialeli C., Theocharis A.D., Karamanos N.K.: Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J.*, 2011; 278: 16-27
- [22] Gil-Martin M., Gomez Pardo P., Lopez-Tarruella S., Manso L., Perez-Fidalgo J.A., Olabisi Ademuyiwa F., Mayer I.A., Pluard T.J., Martinez Garcia M., Kaufman P.A., Vahdat L.T., Hooftman L.W., Romagnoli B., Hernando C., Weilbaecher K.N. i wsp.: Phase I study of the combination of balixafortide (CXCR4 inhibitor) and eribulin in HER2-negative metastatic breast cancer (MBC) patients (pts). *J. Clin. Oncol.*, 2017; 35: 2555
- [23] Grum-Schwensen B., Klingelhofer J., Berg C.H., El-Naaman C., Grigorian M., Lukanidin E., Ambartsumian N.: Suppression of tumor development and metastasis formation in mice lacking the S100A4(mts1) gene. *Cancer Res.*, 2005; 65: 3772-3780
- [24] Hanley C.J., Mellone M., Ford K., Thirdborough S.M., Mellows T., Frampton S.J., Smith D.M., Harden E., Szyndralewicz C., Bullock M., Noble F., Moutasim K.A., King E.V., Vijayanand P., Mirnezami A.H. i wsp.: Targeting the myofibroblastic cancer-associated fibroblast phenotype through inhibition of NOX4. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2018; 110: 109-120
- [25] Hartmann T.N., Burger M., Burger J.A.: The role of adhesion molecules and chemokine receptor CXCR4 (CD184) in small cell lung cancer. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 2004; 18: 126-130
- [26] Hayward S.W., Wang Y., Cao M., Hom Y.K., Zhang B., Grossfeld G.D., Sudilovsky D., Cunha G.R.: Malignant transformation in a nontumorigenic human prostatic epithelial cell line. *Cancer Res.*, 2001; 61: 8135-8142
- [27] Heldin C.H.: Targeting the PDGF signaling pathway in tumor treatment. *Cell Commun. Signal.*, 2013; 11: 97
- [28] Henry L.R., Lee H.O., Lee J.S., Klein-Szanto A., Watts P., Ross E.A., Chen W.T., Cheng J.D.: Clinical implications of fibroblast activation protein in patients with colon cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 1736-1741
- [29] Hofheinz R.D., al-Batran S.E., Hartmann F., Hartung G., Jäger D., Renner C., Tanswell P., Kunz U., Amelsberg A., Kuthan H., Stehle G.: Stromal antigen targeting by a humanised monoclonal antibody: an early phase II trial of sibtrozumab in patients with metastatic colorectal cancer. *Onkologie*, 2003; 26: 44-48
- [30] Izumi D., Ishimoto T., Miyake K., Sugihara H., Eto K., Sawayama H., Yasuda T., Kiyozumi Y., Kaida T., Kurashige J., Imamura Y., Hiyoshi Y., Iwatsuki M., Iwagami S., Baba Y. i wsp.: CXCL12/CXCR4 activation by cancer-associated fibroblasts promotes integrin β 1 clustering and invasiveness in gastric cancer. *Int. J. Cancer*, 2016; 138: 1207-1219
- [31] Jakubowska M.A., Kerkhofs M., Martines C., Efremov D.G., Gerasimenko J.V., Gerasimenko O.V., Petersen O.H., Bultynck G., Vervliet T., Ferdek P.E.: ABT-199 (Venetoclax), a BCL2-mimetic Bcl-2 inhibitor, does not cause Ca²⁺ signalling dysregulation or toxicity in pancreatic acinar cells. *Br. J. Pharmacol.*, 2018 (w druku)
- [32] Ji X., Ji J., Shan F., Zhang Y., Chen Y., Lu X.: Cancer-associated fibroblasts from NSCLC promote the radioresistance in lung cancer cell lines. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2015; 8: 7002-7008
- [33] Jia C.C., Wang T.T., Liu W., Fu B.S., Hua X., Wang G.Y., Li T.J., Li X., Wu X.Y., Tai Y., Zhou J., Chen G.H., Zhang Q.: Cancer-associated fibroblasts from hepatocellular carcinoma promote malignant cell proliferation by HGF secretion. *PLoS One*, 2013; 8: e63243
- [34] Jiang L., Gonda T.A., Gamble M.V., Salas M., Seshan V., Tu S., Twaddell W.S., Hegyi P., Lazar G., Steele I., Varro A., Wang T.C., Tycoko B.: Global hypomethylation of genomic DNA in cancer-associated myofibroblasts. *Cancer Res.*, 2008; 68: 9900-9908
- [35] Jimenez R.E., Hartwig W., Antoniu B.A., Compton C.C., Warshaw A.L., Fernández-Del Castillo C.: Effect of matrix metalloproteinase inhibition on pancreatic cancer invasion and metastasis: an additive strategy for cancer control. *Ann. Surg.*, 2000; 231: 644-654
- [36] Kalluri R.: The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2016; 16: 582-598
- [37] Kalluri R., Zeisberg M.: Fibroblasts in cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2006; 6: 392-401
- [38] Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z.: Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 2010; 141: 52-67
- [39] Kilvaer T.K., Khanekhenari M.R., Hellevik T., Al-Saad S., Paulsen E.E., Bremnes R.M., Busund L.T., Donnem T., Martinez I.Z.: Cancer associated fibroblasts in stage I-IIIa NSCLC: Prognostic impact and their correlations with tumor molecular markers. *PLoS One*, 2015; 10: e0134965
- [40] Kucia M., Jankowski K., Reza R., Wysoczynski M., Bandura L., Allendorf D.J., Zhang J., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion. *J. Mol. Histol.*, 2004; 35: 233-245
- [41] Kuzet S.E., Gaggioli C.: Fibroblast activation in cancer: when seed fertilizes soil. *Cell Tissue Res.*, 2016; 365: 607-619
- [42] Li C., Rezov V., Joensuu E., Vartiainen V., Rönty M., Yin M., Myllärniemi M., Koli K.: Pirfenidone decreases mesothelioma cell proliferation and migration via inhibition of ERK and AKT and regulates mesothelioma tumor microenvironment in vivo. *Sci. Rep.*, 2018; 8: 10070 [43] Li M., Li M., Yin T., Shi H., Wen Y., Zhang B., Chen

- M., Xu G., Ren K., Wei Y.: Targeting of cancer-associated fibroblasts enhances the efficacy of cancer chemotherapy by regulating the tumor microenvironment. *Mol. Med. Rep.*, 2016; 13: 2476–2484
- [44] Loeffler M., Krüger J.A., Niethammer A.G., Reisfeld R.A.: Targeting tumor-associated fibroblasts improves cancer chemotherapy by increasing intratumoral drug uptake. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 1955–1962
- [45] Lujambio A., Calin G.A., Villanueva A., Ropero S., Sánchez-Céspedes M., Blanco D., Montuenga L.M., Rossi S., Nicoloso M.S., Faller W.J., Gallagher W.M., Eccles S.A., Croce C.M., Esteller M.: A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 13556–13561
- [46] Lukaszewicz E., Miekus K., Kijowski J., Drabik G., Wilusz M., Bobis-Wozowicz S., Majka M.: Inhibition of rhabdomyosarcoma's metastatic behavior through downregulation of MET receptor signaling. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 2009; 47: 485–489
- [47] MacDougall J.R., Matrisian L.M.: Contributions of tumor and stromal matrix metalloproteinases to tumor progression, invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.*, 1995; 14: 351–362
- [48] Marlow R., Strickland P., Lee J.S., Wu X., Pebenito M., Binnewies M., Le E.K., Moran A., Macias H., Cardiff R.D., Sukumar S., Hinck L.: SLITs suppress tumor growth in vivo by silencing Sdf1/Cxcr4 within breast epithelium. *Cancer Res.*, 2008; 68: 7819–7827
- [49] Martens E., Leyssen A., Van Aelst I., Fiten P., Piccard H., Hu J., Descamps F.J., Van den Steen P.E., Proost P., Van Damme J., Liuzzi G.M., Riccio P., Polverini E., Opdenakker G.: A monoclonal antibody inhibits gelatinase B/MMP-9 by selective binding to part of the catalytic domain and not to the fibronectin or zinc binding domains. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007; 1770: 178–186
- [50] Mertens J.C., Fingas C.D., Christensen J.D., Smoot R.L., Bronk S.F., Werneburg N.W., Gustafson M.P., Dietz A.B., Roberts L.R., Sirica A.E., Gores G.J.: Therapeutic effects of deleting cancer-associated fibroblasts in cholangiocarcinoma. *Cancer Res.*, 2013; 73: 897–907
- [51] Mitra A.K., Zillhardt M., Hua Y., Tiwari P., Murmann A.E., Peter M.E., Lengyel E.: MicroRNAs reprogram normal fibroblasts into cancer-associated fibroblasts in ovarian cancer. *Cancer Discov.*, 2012; 2: 1100–1108
- [52] Narra K., Mullins S.R., Lee H.O., Strzemkowski-Brun B., Magalong K., Christiansen V.J., McKee P.A., Egleston B., Cohen S.J., Weiner L.M., Meropol N.J., Cheng J.D.: Phase II trial of single agent Val-boroPro (Talabostat) inhibiting fibroblast activation protein in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Biol. Ther.*, 2007; 6: 1691–1699
- [53] Nemunaitis J., Dillman R.O., Schwarzenberger P.O., Senzer N., Cunningham C., Cutler J., Tong A., Kumar P., Pappen B., Hamilton C., DeVol E., Maples P.B., Liu L., Chamberlin T., Shawler D.L., Fakhrai H.: Phase II study of belagenpumatucel-L, a transforming growth factor beta-2 antisense gene-modified allogeneic tumor cell vaccine in non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2006; 24: 4721–4730
- [54] Niedermeyer J., Enenkel B., Park J.E., Lenter M., Rettig W.J., Damm K., Schnapp A.: Mouse fibroblast-activation protein - conserved Fap gene organization and biochemical function as a serine protease. *Eur. J. Biochem.*, 1998; 254: 650–654
- [55] Öhlund D., Elyada E., Tuveson D.: Fibroblast heterogeneity in the cancer wound. *J. Exp. Med.*, 2014; 211: 1503–1523
- [56] Olive K.P., Jacobetz M.A., Davidson C.J., Gopinathan A., McIntyre D., Honess D., Madhu B., Goldgraben M.A., Caldwell M.E., Allard D., Frese K.K., Denicola G., Feig C., Combs C., Winter S.P. i wsp.: Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*, 2009; 324: 1457–1461
- [57] Olumi A.F., Grossfeld G.D., Hayward S.W., Carroll P.R., Tlsty T.D., Cunha G.R.: Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. *Cancer Res.*, 1999; 59: 5002–5011
- [58] Orimo A., Gupta P.B., Sgroi D.C., Arenzana-Seisdedos F., Delaunay T., Naeem R., Carey V.J., Richardson A.L., Weinberg R.A.: Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell*, 2005; 121: 335–348
- [59] Orimo A., Weinberg R.A.: Heterogeneity of stromal fibroblasts in tumors. *Cancer Biol. Ther.*, 2007; 6: 618–619
- [60] Östman A.: PDGF receptors in tumor stroma: Biological effects and associations with prognosis and response to treatment. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2017; 121: 117–123
- [61] Owens P., Polikowsky H., Pickup M.W., Gorska A.E., Jovanovic B., Shaw A.K., Novitskiy S.V., Hong C.C., Moses H.L.: Bone morphogenetic proteins stimulate mammary fibroblasts to promote mammary carcinoma cell invasion. *PLoS One*, 2013; 8: e67533
- [62] Özdemir B.C., Pentcheva-Hoang T., Carstens J.L., Zheng X., Wu C.C., Simpson T.R., Laklai H., Sugimoto H., Kahlert C., Novitskiy S.V., De Jesus-Acosta A., Sharma P., Heidari P., Mahmood U., Chin L. i wsp.: Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell*, 2014; 25: 719–734
- [63] Pang W., Su J., Wang Y., Feng H., Dai X., Yuan Y., Chen X., Yao W.: Pancreatic cancer-secreted miR-155 implicates in the conversion from normal fibroblasts to cancer-associated fibroblasts. *Cancer Sci.*, 2015; 106: 1362–1369
- [64] Peña C., Céspedes M.V., Lindh M.B., Kiflemariam S., Mezheyeuski A., Edqvist P.H., Hägglöf C., Birgisson H., Bojmar L., Jirstrom K., Sandström P., Olsson E., Veerla S., Gallardo A., Sjöblom T. i wsp.: STC1 expression by cancer-associated fibroblasts drives metastasis of colorectal cancer. *Cancer Res.*, 2013; 73: 1287–1297
- [65] Pietras K., Pahler J., Bergers G., Hanahan D.: Functions of paracrine PDGF signaling in the proangiogenic tumor stroma revealed by pharmacological targeting. *PLoS Med.*, 2008; 5: e19
- [66] Prakash J.: Cancer-associated fibroblasts: Perspectives in cancer therapy. *Trends Cancer*, 2016; 2: 277–279
- [67] Rasmussen H.S., McCann P.P.: Matrix metalloproteinase inhibition as a novel anticancer strategy: a review with special focus on batimastat and marimastat. *Pharmacol. Ther.*, 1997; 75: 69–75
- [68] Rizvi S., Mertens J.C., Bronk S.F., Hirsova P., Dai H., Roberts L.R., Kaufmann S.H., Gores G.J.: Platelet-derived growth factor primes cancer-associated fibroblasts for apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2014; 289: 22835–22849
- [69] Sampson N., Brunner E., Weber A., Pühr M., Schäfer G., Szyndralewicz C., Klocker H.: Inhibition of Nox4-dependent ROS signaling attenuates prostate fibroblast activation and abrogates stromal-mediated protumorigenic interactions. *Int. J. Cancer*, 2018; 143: 383–395
- [70] Shaky R., Gonda T., Quante M., Salas M., Kim S., Brooks J., Hirsch S., Davies J., Cullo A., Olive K., Wang T.C., Szabolcs M., Tycko B., Ludwig T.: Hypomethylating therapy in an aggressive stroma-rich model of pancreatic carcinoma. *Cancer Res.*, 2013; 73: 885–896
- [71] Sharon Y., Alon L., Glanz S., Servais C., Erez N.: Isolation of normal and cancer-associated fibroblasts from fresh tissues by fluorescence activated cell sorting (FACS). *J. Vis. Exp.*, 2013; 2013: e4425
- [72] Steward W.P.: Marimastat (BB2516): current status of development. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1999; 43: 56–60
- [73] Strasser A., Cory S., Adams J.M.: Deciphering the rules of programmed cell death to improve therapy of cancer and other diseases. *EMBO J.*, 2011; 30: 3667–3683
- [74] Stuelten C.H., Busch J.I., Tang B., Flanders K.C., Oshima A., Sutton E., Karpova T.S., Roberts A.B., Wakefield L.M., Niederhuber J.E.: Transient tumor-fibroblast interactions increase tumor cell malignancy by a TGF- β mediated mechanism in a mouse xenograft model of breast cancer. *PLoS One*, 2010; 5: e9832
- [75] Subramaniam K.S., Tham S.T., Mohamed Z., Woo Y.L., Mat Adenan N.A., Chung I.: Cancer-associated fibroblasts promote proliferation of endometrial cancer cells. *PLoS One*, 2013; 8: e68923

- [76] Sun Q, Zhang B, Hu Q, Qin Y, Xu W, Liu W, Yu X, Xu J.: The impact of cancer-associated fibroblasts on major hallmarks of pancreatic cancer. *Theranostics*, 2018; 8: 5072–5087
- [77] Sun Y, Campisi J, Higano C, Beer T.M., Porter P, Coleman I, True L, Nelson P.S.: Treatment-induced damage to the tumor microenvironment promotes prostate cancer therapy resistance through WNT16B. *Nat. Med.*, 2012; 18: 1359–1368
- [78] Takai K, Le A, Weaver V.M., Werb Z.: Targeting the cancer-associated fibroblasts as a treatment in triple-negative breast cancer. *Oncotarget*, 2016; 7: 82889–82901
- [79] Tang L.Y., Heller M, Meng Z, Yu L.R., Tang Y, Zhou M, Zhang Y.E.: Transforming growth factor- β (TGF- β) directly activates the JAK1-STAT3 axis to induce hepatic fibrosis in coordination with the SMAD pathway. *J. Biol. Chem.*, 2017; 292: 4302–4312
- [80] Tao L, Huang G, Song H, Chen Y, Chen L.: Cancer associated fibroblasts: An essential role in the tumor microenvironment. *Oncol. Lett.*, 2017; 14: 2611–2620
- [81] Tran E, Chinnasamy D, Yu Z, Morgan R.A., Lee C.C., Restifo N.P., Rosenberg S.A.: Immune targeting of fibroblast activation protein triggers recognition of multipotent bone marrow stromal cells and cachexia. *J. Exp. Med.*, 2013; 210: 1125–1135
- [82] Wald O., Izhar U., Amir G., Kirshberg S., Shlomai Z., Zamir G., Peled A., Shapira O.M.: Interaction between neoplastic cells and cancer-associated fibroblasts through the CXCL12/CXCR4 axis: role in non-small cell lung cancer tumor proliferation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2011; 141: 1503–1512
- [83] Wang L., Cao L, Wang H, Liu B, Zhang Q, Meng Z, Wu X, Zhou Q, Xu K.: Cancer-associated fibroblasts enhance metastatic potential of lung cancer cells through IL-6/STAT3 signaling pathway. *Oncotarget*, 2017; 8: 76116–76128
- [84] Wang W, Li Q, Yamada T, Matsumoto K, Matsumoto I, Oda M., Watanabe G, Kayano Y, Nishioka Y, Sone S, Yano S.: Crosstalk to stromal fibroblasts induces resistance of lung cancer to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 6630–6638
- [85] Wang Y, Gan G, Wang B, Wu J, Cao Y, Zhu D, Xu Y, Wang X, Han H, Li X, Ye M, Zhao J, Mi J.: Cancer-associated fibroblasts promote irradiated cancer cell recovery through autophagy. *EBioMedicine*, 2017; 17: 45–56
- [86] Weeraratna A.T., Jiang Y, Hostetter G, Rosenblatt K, Duray P, Bittner M., Trent J.M.: Wnt5a signaling directly affects cell motility and invasion of metastatic melanoma. *Cancer Cell*, 2002; 1: 279–288
- [87] Wikberg M.L., Edin S, Lundberg I.V., Van Guelpen B, Dahlin A.M., Rutegård J, Stenling R, Oberg A, Palmqvist R.: High intratumoral expression of fibroblast activation protein (FAP) in colon cancer is associated with poorer patient prognosis. *Tumour Biol.*, 2013; 34: 1013–1020
- [88] Xu Y, Zhou X, Mei M, Ren Y.: Reprogramming carcinoma associated fibroblasts by microRNAs. *Curr. Mol. Med.*, 2017; 17: 341–349
- [89] Xue L.J., Mao X.B., Ren L.L., Chu X.Y.: Inhibition of CXCL12/ CXCR4 axis as a potential targeted therapy of advanced gastric carcinoma. *Cancer Med.*, 2017; 6: 1424–1436
- [90] Yang Y.C., Lee Z.Y., Wu C.C., Chen T.C., Chang C.L., Chen C.P.: CXCR4 expression is associated with pelvic lymph node metastasis in cervical adenocarcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2007; 17: 676–686
- [91] Yauch R.L., Gould S.E., Scales S.J., Tang T, Tian H, Ahn C.P., Marshall D, Fu L, Januario T, Kallop D, Nannini-Pepe M, Kotkow K, Marsters J.C., Rubin L.L., de Sauvage F.J.: A paracrine requirement for hedgehog signalling in cancer. *Nature*, 2008; 455: 406–410
- [92] Yoshida T, Ishii G, Goto K, Neri S, Hashimoto H, Yoh K, Niho S, Umemura S, Matsumoto S, Ohmatsu H, Iida S, Niimi A, Nagai K, Ohe Y, Ochiai A.: Podoplanin-positive cancer-associated fibroblasts in the tumor microenvironment induce primary resistance to EGFR-TKIs in lung adenocarcinoma with EGFR mutation. *Clin. Cancer Res.*, 2015; 21: 642–651
- [93] Zhan T, Rindtorff N, Boutros M.: Wnt signaling in cancer. *Oncogene*, 2017; 36: 1461–1473
- [94] Ziani L, Chouaib S, Thiery J.: Alteration of the antitumor immune response by cancer-associated fibroblasts. *Front. Immunol.*, 2018; 9: 414

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.