

Minbizi-zelula amak eta seinalizazio-bideak

Cancer Stem Cells and Signaling Pathways

Olatz Crende¹ eta Patricia Garcia-Gallastegi²

¹ *Zelulen Biologia eta Histologia Saila, Farmazia Fakultatea UPV/EHU*

² *Zelulen Biologia eta Histologia Saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, UPV/EHU*

olatz.crende@ehu.eus

Laburpena

Azkenengo urteotan tumoreak azpipopulazio heterogeneoz osatuta daudela iragarri da. Populazio horien artean minbizi-zelula amak edo ingelesez Cancer Stem Cell (CSC) ditugu, tumore berriak sortzeko ahalmena dutenak. Hori dela-eta kartzinogenesiaren erresistentzia terapeutikoarekin erlazionatu dira. Hainbat zelula ama ezagutzen dira: garapen enbrionariokoak, ehun helduetakoak eta minbizi-zelula amak. Guztietan seinalizazio-bide berak aktibatzen dira zelulen beharretara: Wnt, Notch, Hedgehog eta hazkuntza-faktoreak. Egoera normalean, seinalizazioa aktibatzean ligandohartzaileak eta hainbat molekula erreazio kateatuan nukleora bideratzen dira eta gene ezberdinen transkripzioa eragiten dute; beste gauza batzuen artean, zelulen proliferazioan, desberdintzapenean, heriotzean, mugimenduan edota morfogenesian parte hartzen dute. Seinalizazio-bidea desregulatzen bada, egoera patologiko bat sor daiteke aktibazioaren ondorioz, esaterako minbizia edo endekapenezko gaixotasun bat. Idazki honetan azalduko dugu nola erlazionatzen den seinalizazio-bide horien desregulazioa kartzinogenesiaren sorrerarekin, bereziki minbizi-zelula amen biziraupena sustatuz. Minbiziari aurre egiteko hainbat estrategia elkartu behar dira. Ezagutu behar da nola adierazten diren seinalizazio-bideak tumore bakoitzean eta zein diren horien arteko elkarrekintzak, tratamendu espezifikoagoak diseinatzeko.

Gako-hitzak: wnt, notch, shh, gf eta minbizi-zelula ama

Abstract

It has been recently described that tumors are formed by heterogeneous subpopulations. These populations include cancer stem cells or CSC, which have the potential to generate new tumors, which is why they have been associated with therapeutic resistance to cancer. There exist different stem cells, embryonic and adult and cancer stem cells, where signaling pathways are present; Wnt, Notch, Hh and GF pathways are activated for their cellular needs. When activating the signaling in a natural state, the ligand-receptors and various molecules in a chain reaction reach the nucleus and cause the transcription of different genes; this is related to cell proliferation, differentiation, death, movement or morphogenesis, among other processes. In other cases, if the signaling is dysregulated, it can damage health and create a pathology, such as cancer or degenerative diseases. This paper explains how carcinogenicity is caused by the dysregulation of these signaling pathways, in particular, promoting the survival of CSC. There are several strategies to tackle cancer. Signaling pathways networking need to be studied in each tumor to design treatments that are more specific.

Keywords: wnt, notch, shh, gf, csc

Bidalia: 2019ko martxoaren 12an.

Onartua: 2019ko ekainaren 11n.

<https://doi.org/10.26876/osagaiz.1.2019.232>

1. Sarrera

Garapenaren biologia deritzon zientziak zelulen hazkuntzaren kontrol genetikoa, desberdintzapena eta morfogenesia ikasten ditu, hau da, ehunak eta organoak garatzeko oinarritzko prozesuak. Tumorigenesia sortzen da desberdintzapen-prozesuan onkogene eta gene tumore-ezabatzaileetan gertatzen den nahasmenduaren ondorioz. Enbrioi-garapenak eta tumorigenesiak elkarren antzekotasunak dituzte, zenbait zelula-mekanismo partekatzen baitituzte. Esaterako, minbizi-zelulek ehunetan bidea egiteko eta gorputzetik barreiatzeko, zigotoa plazentan ezartzeko mekanismoa islatzen dute. Prozesu horiek integrina, atxikipen-proteinak eta zelula-kanpoko matrizea digeritzeko entzimen erabilera dute komunean. Bestetik, angiogenesia garrantzitsua da zigotoaren eta tumoreen garapenean, odol-hodi berriak sortzen baitira hazitako zelulak elikatzeko. Gainera, bai garatzen ari den organismoak bai sortu berri den tumoreak seinalizazio-bide ugari aktibatuta dituzte.

Hainbat zelula ama ezagutzen dira. Garapeneko zelula amak 1981ean izendatu ziren lehen aldiz blastozele barruko zelulak eta teratokartzinometako zelulak elkarrengandik desberdintzeko, biek desberdintzapen-prozesu baten bidez beste zelula mota konkretu batzuetara bideratzeko gaitasuna zutelako. Gorputz helduko zelula amak ehun ezberdinetan kokatzen dira, eta kokatzen diren ehuna osatzen duten zelula mota ezberdin gisa ezberdinu daitezke soilik. Ehunaren berriztapen-prozesu naturalean parte hartzen dute, ehun eta organoen homeostasian. Gure gorputzeko zelula ama arruntek eta minbizi-zelula amek antzekotasun handia dute. Izan ere, gizakiaren gorputzaren garapena gidatzen duten mekanismoak minbiziaren sorkuntzaren mekanismoekin parekatzen dira.

Minbizia eritasun talde bat da eta 200 gaixotasun baino gehiago barneratzen ditu, non gorputzeko zelula batzuen zatiketa kontrolik gabe geratzen den. Sortutako zelula berri horiek neoplasia edo tumore bat sortzen dute. Tumoreak onbera edo gaiztoak izan daitezke. Onberak motelago hazten dira, eta ez dira inguruko ehunetara zabaltzen. Oso lokalizatuta daudenez, erazteko errazak dira eta ebakuntza ostean gaixoek ez dute errezidibarik izaten. Tumore gaiztoek, aldiz, izenak berak adierazten duen bezala, ondorio larriagoak dakartzate. Ondoko ehunak inbaditzeko gaitasuna izaten dute, hortik odol-zirkulaziora igaro eta urruneko ehun eta organoak kolonizatzeke gaitasuna izaten dute metastasiak sortuz. Tumoreak solidoak izaten dira orokorrean, baina likidoak ere izan daitezke, leuzemia esaterako. Ehunka minbizi mota ezagutzen dira, ohikoenak bularrekoa, biriketakoa, larruazalekoa eta kolonekoa dira (1).

Azkenengo urteotan interes handia sortu da minbizia eta minbizi-zelula amak erlazionatzen dituen biologian (2). Tumorea osatzen duen zelula-azpipopulazio batek eta zelula amek dituzten antzeko ezaugarrietan oinarritzen da minbizi-zelula amen teoria (3). Zelula amen eredu hierarkikoari jarraituz, minbizi-zelula amek saguetan xenotxertatuta tumore berriak sortzeko ahalmena dute, beraz "tumoreak hasteko zelulak" deitu ohi dira ere. Zelula hauek oso erresistenteak dira gaur egungo kimioterapia eta erradioterapien aurrean, eta tratamendu ostean pazienteen errezidibarekin erlazionatzen dira.

Minbizi-zelula amen lehenengo ebidentzia esperimentalak zelula hematopoietikotik izan zen, leuzemia mieloide akutuan hain zuzen ere (4). Urte batzuk geroago, tumore solidoetan ere igarri ziren, hala nola bularreko (5), pankreako (6), koloneko (7) eta garuneko tumoreetan (8).

Seinalizazio-bideak molekular osatutako interakzio katedunak dira, zelulen artean edo zelula barnean gertatzen direnak, funtzio bat osatuz. Molekula ezberdinen aktibazioz edota inhibizioz komunikazioa da helburua, egoeraren arabera zelularen moldapen fisiologikoa, heriotza, proliferazioa edo desberdintzapena eraginez. Organismo osasuntsu batean enbrioiaren garapena zein zelula ama helduen homeostasia gidatzen duten seinalizazio-bide espezifiko eta konkretuak daude, baina bidea osatzen duten elementuetan mutazioak gertatzen badira, desorekatu egiten da, eta, ondorioz, minbiziaren sorrera ekar lezake.

Enbrioi-garapena eta minbizia zuzentzen duten seinale-bide nagusiak eta ikertuenak NOTCH, WNT, SHH eta FGFak dira, zelula amen biologiarekin erlazionatuta daudenak.

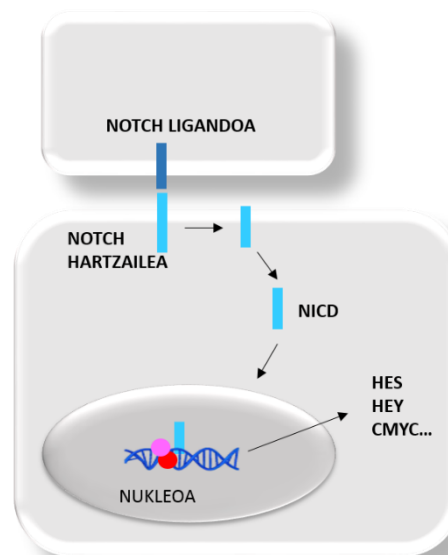
2. Seinalizazio-bideak

2.1 Notch seinalizazio-bidea

Organismo zelulaniztunetan eboluzioan zehar oso kontserbatuta dagoen seinalizazio-bidea da, eta garapenean, zelulen zorizko esleipenean eta ehunen homeostasian parte hartzen du.

Notch seinalizazio-bidea zelulen artean modu juxtakrinoan gertatzen da, hots, seinalea hazten eta jasotzen duten zelulak kontaktuan jarri behar dira. Notch hartzaileak 300 kDeko mintzean zeharreko proteinak dira, zelula kanpoko zatiak EGF proteinen bezalako errepikapen aldakorrak dituztenak eta barneko zatiak NICD motako azpiunitatea dituztenak.

Bide kanonikoa hartzaileen eta ligandoen arteko loturarekin hasten da, zelula kanpoko metaloproteinaren eta mintzeko gamma (γ)-sekretasen partez zatiketa proteolitikoa eraginez. γ -sekretasa konplexuak egindako mozketarekin hartzailearen barneko azpiunitatea askatu egiten da. NICDa nukleora translokatzeko da eta hainbat transkripzio-kofaktoreekin zenbait generen adierazpena eragiten du. Gene horien artean, c-Myc, p21, eta HES-familiako faktoreak daude.



NOTCH seinalizazio-bide kanonikoa

Notch enbrioiaren garapenean (9) zehar aktibatuta dagoen seinalizazio-bidea da. Aldameneko espezifikazio-gertaeran (“lateral specification events”) (10) inplikaturik dago, hots, parte hartzen du zelula-talde aitzindariaren leinuen segregazioan, ehun ezberdinen mugen definizioan eta ehun helduen homeostasian (11).

Minbiziarekin loturiko seinalizazio-bide honek gene tumore-ezabatzaile gisa zein onkogene gisa joka dezake, tumorearen arabera. Tumoreen % 50ean Notch proteinaren edota seinale-bidearen beste elementu batzuetan daramate mutazioa, ondorioz bidearen ezohiko aktibazio bat sortzen da. Bularreko, heste lodiko, prostatako, biriketako eta odoleko minbizietan nahastuta dagoela adierazi da (12).

Seinalizazio-bide hau zelula amen mantentze-lanekin erlazionatu da (13, 14), gainera minbizi-zelula amen gaitasuna (15).

Olatz Crende, Patricia Garcia-Gallastegi

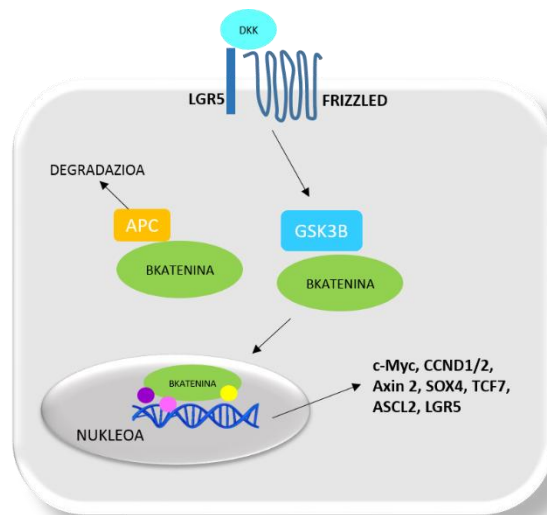
Minbizi-zelula ametan ere bidearen adierazpena agertzen da, zenbait ikerkuntzak bularreko, hestegorriko, koloneko eta prostatako minbizietako zelula amak Notch seinalizazio-bidearen nahasmenduarekin erlazionatu dituzte (16, 17).

2.2. Wnt seinalizazio-bidea

Wnt/ β -katenina oso kontserbatuta dagoen seinalizazio-bidea da eta rol kritiko bat du hainbat prozesu fisiologiko zein patologikotan, horien artean, garapenean, organogenezian eta tumoreen sorreran (18).

Seinalizazio-bide honek hiru adar ditu: kanonikoa edo ohikoa, ez-kanonikoa eta Ca^{2+} bidea.

Bide kanonikoan, seinalizazio-bidea inaktibo dagoenean, β -katenina proteina zitoplasman kokatzen da, eta APCrekin batera degradazio-konplexua osatzen du (19). Aktibatzen denean, ordea, APC degradazio-konplexua eteten da eta proteina askea nukleora garraiatu egiten da, non TCF/LEF proteinekin konplexu bat eratzen duen, aktibazio-konplexua sortuz. Itu-geneen adierazpena aktibatu egiten du, horien artean c-Myc, CCND1/2, Axin 2, SOX4, TCF7, ASCL2, LGR5 (20).



WNT seinalizazio-bide kanonikoa

Wnt bidea egoera fisiologikoan isilarazita agertzen da. Baina aktibatu egiten da enbrioi-garapenean eta tumorigenezian, eta beharrezkoa da zelula amen pluripotentsialtasuna mantentzeko. Wnt/ β -katenina seinalizazio-bideak miogenesiaren indukzioan (21), hortz-garapenean (22), nerbio-sistema zentralaren garapenean (23), eta gorputz-adarren eredu goiztiarraren eraketan (24) parte hartzen du enbrioi-garapenean.

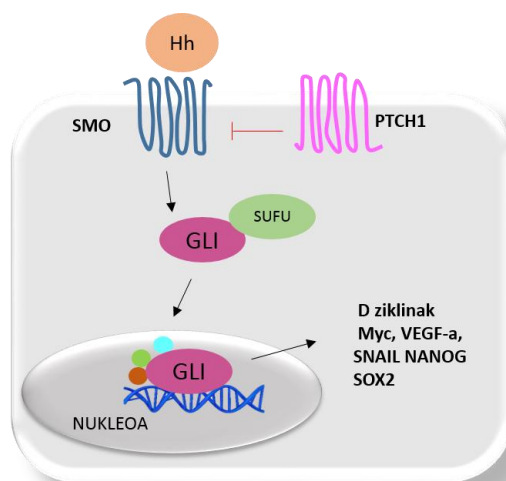
Wnt bide kanonikoan errore bat metatzen denean, β -kateninaren maila handitu egiten da. APC genearen mutazioa koloneko minbiziaren sorreraren lehen urratsa izaten da eta ia kasuen % 100ean APC genearen delezio batek edo β -kateninaren mutazioak eragiten du Wnt bidearen aktibazioa. Ondorioz itu-geneen gainadierazpena geratzen da, horien artean D1 ziklina, ziklo zelularren erregulatzailea (25). Azken urteetan, Wnt bideak leuzemian duen rola ezagutza geroz eta handiagoa da, eta bertan Wnt bidearen gainadierazpena ikusten da (26). Adibidez, leuzemia linfatiko kronikoan Wnt bide kanonikoaren gainaktibazioa ikusten da, eta bidearen inhibizioak apoptosiaren igoera eragiten du (27). Melanomen % 25 nevus onberen progresiotik datoz, non nevus onbera horietan melanozitoek BRAFv600E edo NRASQ61K mutazio bat jasan duten, baina onkogeneak berak eragindako seneszentzia pairatzen duten (28). Aldiz, ikusi da Wnt bide kanonikoak seneszentzia horren hasieraren atzerapena eragiten duela melanozito mota bietan, modu horretan, tumoreen garapenerako aukera handituz (29). Dena den, bide honen garrantzia melanomaren progresioan ez da oso argia (30). Bestetik, bularreko minbizien % 50 baino kasu gehiagotan Wnt bidea aktibatuta agertzen da eta biziraupen orokorraren murrizketarekin erlazionatu da (31) eta bide kanonikoaren ligando zein hartzaileen gainadierazpena ikusi da (32).

Bestetik, bide hau nahitaezkoa da izaera pluripotenziala mantentzeko, bai enbrioi-zelula ametan zein zelula ama helduetan. Garapenarekin erlazionatutako bide honek ugaztunen ehunen berriztapen-tasa mantentzen du zelula amen jarduera doitzuz, bai hesteetako zelula ametan (33), bai epidermisan (34) bai hezur-muinetakoetan (35). Eta Masaru Katoh-ek (36) eginiko lanean jasotzen den bezala, Wnt bide kanonikoa zein ez-kanonikoaren aktibazioa, hainbat minbizi motaren zelula ametan, pazienteen biziraupenarekin erlacionatu da, horien artean, bular, kolon, urdail, birika, obulutegi, pankrea, prostata eta umetokiko minbizietan, eta melanoman eta leuzemian. Wnt/ β -Catenina seinalizazio-bidearen inhibitzaile ugari erabiliak izan dira minbizi-zelula amen autoberritze-prozesuak inhibitzeko, eta, ondorioz, zelula horien desagerpena eragin dute (37).

2.3. Hedgehog seinalizazio-bidea

Hedgehog (Hh) fenotipoa Drosophila-n aurkitu zen segmentu-polaritatearen mutazio gisa. Hh-k giza garapenean hainbat funtziotan parte hartzen du, eskuin-ezkerreko ardatzaren zehaztapenean batik bat.

Hedgehog geneak hiru homologo ditu ugaztunetan: IHh (Indian Hedgehog), Dhh (Desert Hedgehog) eta SHh (Sonic Hedgehog), non azken hori den ikertuena. Egoera normalean, Ptch1 mintzean zeharreko proteina hartzailak Smo proteina inhibitzen du. Hh proteinaren presentzian Smo proteinaren inhibizioa galarazi egiten da. Ondorioz, Gli transkripzio-faktorea aktibatu egiten da, nukleora lekualdatu eta itu-geneen adierazpena eragiten du. Horien artean, proliferazio-geneak diren D ziklinak eta c-Myc-a, angiogenesirako VEGFa, epitelio-mesenkimetako trantsizioko SNAIL genea edota ama zelulen autoberritzerako NANOGa eta SOX2a (38).



SHH seinalizazio-bide kanonikoa

SHh bidea funtsezkoa da enbrioi-garapenean zelulen hazkuntza eta desberdintzapena erregulatzeko, bai eta organismo helduan ehun eta organoen homeostasiaren mantentzean ere. Bide honen aktibazioak ugalketaz, angiogenesiaz eta zelula amen zaharberritzeaz arduratzen diren geneen adierazpena eragiten du (39). Baina seinalizazio-bide hau ezohiko egoera baten ondorioz aktibatzen denean, hainbat tumoreren garapena errazten du, tumorigenesian eta metastasian parte hartuz.

Enbrioi-garapenean Hh bidea ezinbestekoa da, garatzen ari diren organoek zelula-edukiera, tamaina eta kokapena egokia izan ditzaten (40). Ektoderma, mesoderma eta endodermako zelula-talde espezifikoetan hazkuntza- eta desberdintzapen-prozesuak eragiten ditu mitogeno gisa eta, are zehatzago, nerbio-ehunaren indukzioan esku-hartzen du, hortzen sorrera eta biriken garapena (41). Orobat ikusi da neuronen aitzindarien proliferazioa eta biziraupena bermatzen duela sabel-aldeko bizkar-muinean (42).

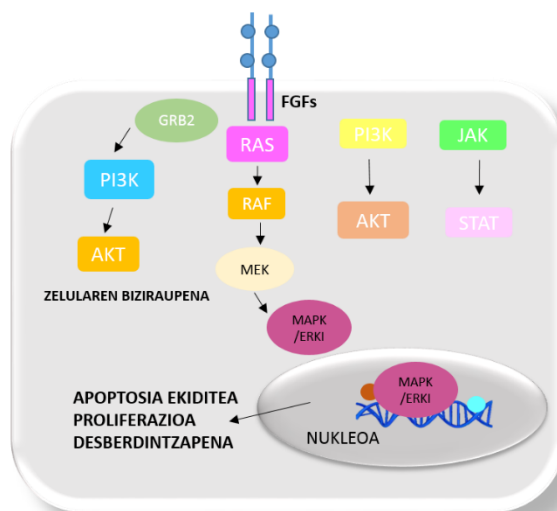
Olatz Crende, Patricia Garcia-Gallastegi

Minbizi-garapenen % 20-25ean Hh seinalizazio-bidea desregulatuta agertzen da, bai Hh proteinen gainadierazpena dagoelako bai bidean parte hartzen duten geneetan mutazioa agertzen delako. Hh bidearen gene asko onkogeneak edo gene tumore-ezabatzaileak dira. Adibidez, funtzioaren galera dakarren Ptch1 genearen mutazioak, edo funtzioaren irabazia eragiten duten Smo, SHh eta Gli geneen mutazioak, larruzaleko minbizia eragiten dute, batez ere zelula basalen kartzinoma (43). Eta Phtc1 meduloblastoma, glioblastoma, rabdomiosarkoma eta koloneko, bularreko eta pankreako minbiziarekin lotu da (44).

Hedgehog seinalizazio-bidearen itu-geneen artean, zelula amak autoberritzatzeko baliogarriak diren nanog eta sox2 proteinak daude. Transkripzio-faktore bi horiek ezinbestekoak dira enbrioia garapenean zein ehun helduan zelula amen mantentzerako (45). Adibidez, bularreko ehun osasuntsuko zelula ametan zein minbizi-zelula ametan Ptch1 eta Gli geneen gainadierazpena dagoela ikusi da (46). Eta Hh bidea ezinbestekoa da sistema hematopoietikoaren zelula amen eta leuzemia mieloidearen tumore-zelula amen mantentzean zein autoberritze-prozesuetan (47), baita melanoman (48) eta pankreako (49) tumore solidoetan aurkitzen diren minbizi-zelula ametan ere.

2.4. Hazkuntza-faktoreak

Hazkuntza-faktoreek (growth factor - GF) edota “faktore trofikoek” familia bat osatzen dute, gehienak proteinak dira eta ehunaren arabera adierazten dira. Esaterako, FGF fibroblastoen hazkuntza-faktorea, PDGF plaketatik bideratutako hazkuntza-faktorea, EGF epidermiseko hazkuntza-faktorea, HGF hepatozitoen hazkuntza-faktorea, VEGF hodi-endotelioaren hazkuntza-faktorea, beste batzuen artean. Ugaztunetan 19 jariatutako FGF proteina mota ezberdin daude. Horiek tirosinakinasa motako hartzaileekin (FGFR) lotzen dira. FGFRak fosforilazio bidez tirosinazko domeinu espezifikoak aktibatzen ditu, eta, proteina-adaptatzailearen eta RAS-MAPK, PI3K-AKT, PLC γ eta STAT moduko bitartekarien bidez seinalea nukleora tanslokatu.



GF seinalizazio-bide kanonikoa

Garapenean eta gizaki helduen fisiologian eta patologian parte hartzen duen seinalizazio- bidea da. FGFek funtzio metabolikoak dituzte, eta ehun-konponketa eta birsorkuntzaren bitartekari dira, sarritan garapenarekin erlazionatzen diren seinalizazio-bideak aktibatzen dituztelarik.

Hazkuntza-faktoreek tumorearen hedapenean parte hartzen dute, bai hasierako zelula- hazkuntza eta klonen hedapena bultzatuz, bai ondoko ehunen inbasioa eta barreiatzea bultzatuz. Era berean, erlazionatu dira tumoreen terapia zitotoxikoak ekiditeko gaitasunarekin eta angiogeniarekin (50).

Glioblastomako zeluletan FGF2ak zelula amen gaitasunaren mantentze-prozesuan parte hartzen du. Gene hori gliomako zelula ametan isilarazi egiten bada, zelulek desberdintzapen-prozesu bat

pairatuko dute; aitzitik, hazkuntza-faktorea mantentzen bada, hori ez da gertatuko (51). Era berean, orain dela gutxi iragarri denez, FGF2ak nestinaren adierazpenean eragina du, nerbio-sistemako zelula ama proteina markatzaile bat, FGF2a zelula amen ezaugarriak mantentzeko beharrezkoa dela berretsiz (52).

3. Eztabaida

Minbizi-zelula amak edo CSCak minbiziaren aurkako tratamenduak garatzeko iturri bihurtu dira, Wnt, Hh, Notch eta FGF enbrioi-garapenerako eta homeostasirako seinalizazio-bideak diren molekulen kontra bideratuta. Tratamendu horien garapena erronka bat da, hain zuzen ere, zelula amaren kontra zuzendutako eragileak probatzeko modelo prekliniko zehatzak garatu behar direlako, ondoren klinikarako erabilgarriak diren agente terapeutikoak identifikatzeko asmoz. Eragile esperimental berriak garatzen ari dira Wnt, Notch eta Hh seinalizazio-bideak inhibitzeko, adibidez Hh eta Notch seinalizazio-bideen inhibitzaileak diren GDC0449, RO4929097 molekulak (53). Inhibitzaile horiek tumoreen eta metastasien aurka bideratzen dira, baina eraginkorragoak izango lirateke ikuspuntua aldatuz eta ez soilik tumore osoa hartuz, tumorearen zelula amen populazioaren aurka bideratuko balira.

Gainera, seinalizazio-bide hauek guztiek ez dute era isolatuan funtzionatzen, sare koordinatu gisa aritzen baitira. Zelula amen fenotipoa seinalizazio-sare osoaren emaitza da. Horrela, zelula amen kontrako inhibitzaileak garatzeak aurrez seinalizazio-nodoen konbinazioen funtzioa ulertzea eskatzen du. Horrez gain, seinalizazio-bidearen jardura eta eragileen eraginkortasuna aurreikusten dituzten biomarkatzaileak beharrezkoak dira. Era berean, medikuntza pertsonalizatua garatzea izango litzateke gakoa, tumore bakoitzeko azpipopulazio eta paziente-taldearen artean efizientzia bermatzeko. Minbiziaren tratamendu espezifikoak biomedikuntzako arlo ezberdinen inplikazioa eskatzen du, intereseko farmako eraginkorrak garatu nahi baditugu.

4. Erreferentzia bibliografikoak

1. Minbiziaren oinarriak [Internet]. National Cancer Institute. 2019. [online kontsultatuta 2019ko urtarrilaren 25ean]. Eskuragarri [URL]: <https://www.cancer.gov/about-cancer>.
2. Schoenhals M, Kassambara A, De Vos J, Hose D, Moreaux J, Klein B. Embryonic stem cell markers expression in cancers. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2009 May 29;383(2):157-62.
3. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* [Internet]. 2001 Nov 1;414(6859):105-11.
4. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* [Internet]. 1997 Jul;3(7):730-7.
5. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2003 Apr 1;100(7):3983-8.
6. Hermann PC, Mueller MT, Heeschen C. Pancreatic cancer stem cells--insights and perspectives. *Expert Opin Biol Ther* [Internet]. 2009 Oct;9(10):1271-8.
7. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* [Internet]. 2007 Jan 4;445(7123):106-10.
8. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD, Dirks PB. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* [Internet]. 2004 Nov

Olatz Crende, Patricia Garcia-Gallastegi

- 18;432(7015):396-401.
9. Iso T, Hamamori Y, Kedes L. Notch signaling in vascular development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2003 Apr 1;23(4):543-53.
 10. Greenwald I. LIN-12/Notch signaling: Lessons from worms and flies. *Genes Dev* [Internet]. 1998 Jun 15;12(12):1751-62.
 11. Schwanbeck R, Schroeder T, Henning K, Kohlhof H, Rieber N, Erfurth ML, Just U. Notch signaling in embryonic and adult myelopoiesis. *Cells Tissues Organs* [Internet]. 2008;188(1-2):91-102.
 12. Bigas A, Espinosa L. The multiple usages of notch signaling in development, cell differentiation and cancer. *Curr Opin Cell Biol* [Internet]. 2018 Dec; 55:1-7.
 13. Yamamoto N, Tanigaki K, Han H, Hiai H, Honjo T. Notch/RBP-J signaling regulates epidermis/hair fate determination of hair follicular stem cells. *Curr Biol* [Internet]. 2003 Feb 18;13(4):333-8.
 14. Chiba S. Notch signaling in stem cell systems. *Stem Cells* [Internet]. 2006 Nov;24(11):2437-47.
 15. Heerboth S, Housman G, Leary M, Longacre M, Byler S, Lapinska K, Willbanks A, Sarkar S. EMT and tumor metastasis. *Clin Transl Med* [Internet]. 2015 Feb 26;4:6,015-0048-3. eCollection 2015.
 16. Huang KH, Sung IC, Fang WL, Chi CW, Yeh TS, Lee HC, Yin PH, Li AF, Wu CW, Shyr YM, Yang MH. Correlation between HGF/c-met and Notch1 signaling pathways in human gastric cancer cells. *Oncol Rep* [Internet]. 2018 Jul;40(1):294-302.
 17. Hu BD, Guo J, Ye YZ, Du T, Cheng CS, Jiang Q, Liu RN, Zhang YB. Specific inhibitor of Notch3 enhances the sensitivity of NSCLC cells to gemcitabine. *Oncol Rep* [Internet]. 2018 Jul;40(1):155-64.
 18. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell* [Internet]. 2006 Nov 3;127(3):469-80.
 19. Wu G, Xu G, Schulman BA, Jeffrey PD, Harper JW, Pavletich NP. Structure of a beta-TrCP1-Skp1-beta-catenin complex: Destruction motif binding and lysine specificity of the SCF(beta-TrCP1) ubiquitin ligase. *Mol Cell* [Internet]. 2003 Jun;11(6):1445-56.
 20. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: Components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* [Internet]. 2009 Jul;17(1):9-26.
 21. Chen AE, Ginty DD, Fan CM. Protein kinase A signalling via CREB controls myogenesis induced by wnt proteins. *Nature* [Internet]. 2005 Jan 20;433(7023):317-22.
 22. Sarkar L, Sharpe PT. Expression of Wnt signalling pathway genes during tooth development. *Mech Dev* [Internet]. 1999; 85(1_2): 197_200.
 23. Shimogori T, Banuchi V, Ng HY, Strauss JB, Grove EA. Embryonic signaling centers expressing BMP, WNT and FGF proteins interact to pattern the cerebral cortex. *Development* [Internet]. 2004;/131(22):5639_47.
 24. Yang Y. Wnts and wing: Wnt signaling in vertebrate limb development and musculoskeletal morphogenesis. *Birth Defects Res C Embryo Today* [Internet]. 2003;/69(4):305_17.
 25. Tetsu O, McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* [Internet]. 1999 Apr 1;398(6726):422-6.

26. Luis TC, Ichii M, Brugman MH, Kincade P, Staal FJ. Wnt signaling strength regulates normal hematopoiesis and its deregulation is involved in leukemia development. *Leukemia* [Internet]. 2012 Mar;26(3):414-21.
27. Lu D, Zhao Y, Tawatao R, Cottam HB, Sen M, Leoni LM et al. Activation of the Wnt signaling pathway in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* [Internet]. 2004; 101: 3118–3123.
28. Dhomen N, Marais R. BRAF signaling and targeted therapies in melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. 2009 Jun; 23(3):529,45, ix.
29. Juan J, Muraguchi T, Iezza G, Sears RC, McMahon M. Diminished WNT -4beta-catenin-4c-MYC signaling is a barrier for malignant progression of BRAFV600E-induced lung tumors. *Genes Dev* [Internet]. 2014; 28: 561–575.
30. Webster MR, Weeraratna AT. A wnt-er migration: The confusing role of beta-catenin in melanoma metastasis. *Sci Signal* [Internet]. 2013 Mar 26;6(268):pe11.
31. Lin SY, Xia W, Wang JC, Kwong KY, Spohn B, Wen Y, Pestell RG, Hung MC. Beta-catenin, a novel prognostic marker for breast cancer: Its roles in cyclin D1 expression and cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2000 Apr 11;97(8):4262-6.
32. Xu J, Prosperi JR, Choudhury N, Olopade OI, Goss KH. B-catenin is required for the tumorigenic behavior of triple-negative breast cancer cells. *PLoS One* [Internet]. 2015; 10: 1–11.
33. Krausova M, Korinek V. Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer. *Cell Signal* [Internet]. 2014 Mar;26(3):570-9.
34. Veltri A, Lang C, Lien WH. Concise review: Wnt signaling pathways in skin development and epidermal stem cells. *Stem Cells* [Internet]. 2018 Jan;36(1):22-35.
35. Batsali AK, Pontikoglou C, Koutroulakis D, Pavlaki KI, Damianaki A, Mavroudi I, Alpantaki K, Kouvidi E, Kontakis G, Papadaki HA. Differential expression of cell cycle and WNT pathway-related genes accounts for differences in the growth and differentiation potential of wharton's jelly and bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2017 Apr 26;8(1):102,017-0555-9.
36. Katoh M. Canonical and non-canonical WNT signaling in cancer stem cells and their niches: Cellular heterogeneity, omics reprogramming, targeted therapy and tumor plasticity (review). *Int J Oncol* [Internet]. 2017 Nov;51(5):1357-69.
37. Katoh M. Antibody-drug conjugate targeting protein tyrosine kinase 7, a receptor tyrosine kinase-like molecule involved in WNT and vascular endothelial growth factor signaling: Effects on cancer stem cells, tumor microenvironment and whole-body homeostasis. *Ann Transl Med* [Internet]. 2017b Dec;5(23):462.
38. Varjosalo M, Taipale J. Hedgehog: Functions and mechanisms. *Genes Dev* [Internet]. 2008 Sep 15;22(18):2454-72.
39. Wu F, Zhang Y, Sun B, McMahon AP, Wang Y. Hedgehog signaling: From basic biology to cancer therapy. *Cell Chem Biol* [Internet]. 2017 Mar 16;24(3):252-80.
40. Caro I, Low JA. The role of the hedgehog signaling pathway in the development of basal cell carcinoma and opportunities for treatment. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2010 Jul 1;16(13):3335-9.
41. Wilson L, Maden M. The mechanisms of dorsoventral patterning in the vertebrate neural

Olatz Crende, Patricia Garcia-Gallastegi

- tube. *Dev Biol* [Internet]. 2005 Jun 1;282(1):1-13.
42. Litington Y, Chiang C. Specification of ventral neuron types is mediated by an antagonistic interaction between Shh and Gli3, *Nat. Neurosci* [Internet]. 2000; 979–985.
 43. Teglund S, Toftgard R. Hedgehog beyond medulloblastoma and basal cell carcinoma. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2010 Apr;1805(2):181-208.
 44. Tostar U, Toftgard R, Zaphiropoulos PG, Shimokawa T. Reduction of human embryonal rhabdomyosarcoma tumor growth by inhibition of the hedgehog signaling pathway. *Genes Cancer* [Internet]. 2010 Sep;1(9):941-51.
 45. Sari IN, Phi LTH, Jun N, Wijaya YT, Lee S, Kwon HY. Hedgehog signaling in cancer: A prospective therapeutic target for eradicating cancer stem cells. *Cells* [Internet]. 2018 Nov 10;7(11):10.3390/cells7110208.
 46. Liu S, Dontu G, Mantle ID, Patel S, Ahn NS, Jackson KW, Suri P, Wicha MS. Hedgehog signaling and bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells. *Cancer Res* [Internet]. 2006 Jun 15;66(12):6063-71.
 47. Zhao C, Chen A, Jamieson CH, Fereshteh M, Abrahamsson A, Blum J, Kwon HY, Kim J, Chute JP, Rizzieri D, Munchhof M, VanArsdale T, Beachy PA, Reya T. Hedgehog signalling is essential for maintenance of cancer stem cells in myeloid leukaemia. *Nature* [Internet]. 2009 Apr 9;458(7239):776-9.
 48. Santini R, Vinci MC, Pandolfi S, Penachioni JY, Montagnani V, Olivito B, Gattai R, Pimpinelli N, Gerlini G, Borgognoni L, Stecca B. Hedgehog-Gli signaling drives self-renewal and tumorigenicity of human melanoma-initiating cells. *Stem Cells* [Internet]. 2012 Sep;30(9):1808-18.
 49. Song L, Wang W, Liu D, Zhao Y, He J, Wang X, Dai Z, Zhang H, Li X. Targeting of sonic hedgehog-gli signaling: A potential therapeutic target for patients with breast cancer. *Oncol Lett* [Internet]. 2016 Aug;12(2):1027-33.
 50. Witsch E, Sela M, Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology (Bethesda)* [Internet]. 2010 Apr;25(2):85-101.
 51. Pollard SM, Yoshikawa K, Clarke ID, Danovi D, Stricker S, Russell R, Bayani J, Head R, Lee M, Bernstein M, Squire JA, Smith A, Dirks P. Glioma stem cell lines expanded in adherent culture have tumor-specific phenotypes and are suitable for chemical and genetic screens. *Cell Stem Cell* [Internet]. 2009 Jun 5;4(6):568-80.
 52. Li G, Chen Z, Hu YD, Wei H, Li D, Ji H, Wang DL. Autocrine factors sustain glioblastoma stem cell self-renewal. *Oncol Rep* [Internet]. 2009 Feb;21(2):419-24.
 53. Takebe N, Harris PJ, Warren RQ, Ivy SP. Targeting cancer stem cells by inhibiting wnt, notch, and hedgehog pathways. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2011 Feb;8(2):97-106.