

Comentário sobre células-tronco do câncer: Um novo alvo terapêutico?*

Marcel Vasconcellos¹⁺

ABSTRACT. Vasconcellos M. [Comment on stem cells of cancer: A new therapeutic target?] Comentário sobre células-tronco do câncer: Um novo alvo terapêutico? *Revista Brasileira de Medicina Veterinária* 38(2):111-115, 2016. Programa de Pós-Graduação em Ciências Cirúrgicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Carlos Chagas Filho, Cidade Universitária, Fundão, RJ 21940-902, Brasil. E-mail: marcelvasconcellos@yahoo.com.br

The cancer affects about 500,000 new cases each year in Brazil. The understanding of carcinogenesis is still one of the most current and controversial issues in the field of research. The theory of cellular hierarchy revive an old hypothesis of a tumor subpopulation called cancer stem cells (CSC's) with unique characteristics of self-renewal and tumorigenicity, which grew in evidence from their identification and isolation in many human tumors. To discuss the impact that the validation of the theory of CSC's can cause in relation to the current treatment of the disease. Critical analysis of scientific publications obtained through the electronic databases *Medline, Lilacs, and Scielo* researching the keywords: *stem cells, cancer stem cells, clonal evolution*. Articles were selected from the 90 by the year 2014. Studies using CSC's anti-drugs targeting selective inhibition of cell self-renewal pathways specifically by surface markers for vehicle cytotoxic agents, had success in tests preliminary. Prospects for a reorientation of therapeutic targets through selective elimination of CSC's preserving however, normal stem cells, represents the current goal to be achieved by researchers and biopharmaceutical companies worldwide.

KEY WORDS. Clonal evolution, carcinogenesis, stem cells.

RESUMO. O câncer atinge cerca de 500.000 novos casos a cada ano no Brasil. A compreensão da carcinogênese é ainda uma das questões mais atuais e controversas no campo da pesquisa. A teoria da hierarquia celular revive uma antiga hipótese de uma subpopulação tumoral denominada células-tronco tumorais (CTT's) com características exclusivas de auto-renovação e tumorigenicidade, as quais cresceram em evidência a partir de sua identificação e isolamento em diversos tumores humanos. Discute-se o impacto que a validação da teoria das CTT's pode causar em relação ao tratamento atual da doença. Realizou-se análise crítica de publicações científicas obtidas por meio das bases eletrônicas de dados *Medline, Lilacs, e Scielo* pesqui-

sando-se as palavras-chave: *stem cells, cancer stem cells, clonal evolution*. Foram selecionados artigos a partir da década de 90 até o ano de 2014. Estudos utilizando drogas anti-CTT's visando a inibição seletiva das vias de auto-renovação celular especificamente através de marcadores de superfície para veículos de agentes citotóxicos, apresentaram êxito em testes preliminares. As perspectivas de uma reorientação de alvos terapêuticos através da eliminação seletiva de CTT's preservando, no entanto, células estaminais normais, representam a atual meta a ser alcançada por pesquisadores e empresas biofarmacêuticas em todo o mundo.

PALAVRAS-CHAVE. Evolução clonal, carcinogênese, células-tronco.

* Recebido em 6 de setembro de 2015.

Aceito para publicação em 7 de janeiro de 2016.

¹ Médico-veterinário, Zootecnista. Pós-Graduado em Oncologia Veterinária, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Cirúrgicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Carlos Chagas Filho, Cidade Universitária, Fundão, RJ 21940-902.

⁺ Autor para correspondência, E-mail: marcelvasconcellos@yahoo.com.br - bolsista CAPES.

INTRODUÇÃO

O conceito atual de célula-tronco tumoral (CTT) evoluiu a partir da observação das semelhanças entre os mecanismos de auto-renovação das células-tronco e células cancerosas (Reya et al. 2014). Definida como uma subpopulação celular de fenótipo distinto com capacidade de auto-renovação e com a propriedade fundamental de tumorigenicidade, as células-tronco tumorais são as únicas capazes de iniciar a formação de um tumor quando implantadas em um modelo murino imunodeficiente (Allegra & Trapasso 2012). Por apresentarem uma cinética de crescimento tumoral lenta, estas células podem permanecer em repouso na fase de intérfase do ciclo celular por períodos indefinidos escapando de protocolos de tratamento convencionais. Seu potencial de auto-renovação pode provocar sua ativação, diferenciação e proliferação, ocasionando recidivas locais ou mesmo disseminação metastática (Krishnamurthy & Nör 2012).

Estas células foram isoladas e/ou identificadas através de perfis de expressão de marcadores de seleção adequados em diversos tumores humanos: leucemia mielóide crônica CD34+/CD38- (Bonnet & Dick 1997), câncer de mama CD44+/ESA+/CD24- (Al-Hajj et al. 2003), cérebro CD33+ (Singh & Settleman 2010), próstata CD44+/CD133+ (Collins et al. 2005), cólon CD133+ (O'Brien et al. 2007, Ricci-Vitiani et al. 2007), pâncreas CD44+/CD24+/ESA+ (Li et al. 2007), pulmão CD133+ (Ho et al. 2007), fígado CD133+ (Yamashita et al. 2009), ovário CD133+/CD44+/CD117+ (Gao et al. 2007), no melanoma CD271- (Civenni et al. 2011), em sarcomas ósseos CD133+ (Tirino et al. 2011), e recentemente no carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço CD24+/CD44+ (Han et al. 2014).

Este trabalho teve por objetivo realizar uma revisão bibliográfica discutindo o impacto que a validação desta teoria pode causar em relação ao tratamento atual da doença.

MATERIAL E MÉTODOS

As bases eletrônicas de dados *Medline*, *Lilacs*, e *SciELO* foram pesquisadas utilizando as palavras-chave: *stem cells*, *cancer stem cells*, *clonal evolution*. Foram selecionados artigos a partir da década de 90 até o ano de 2014.

REVISÃO DE LITERATURA

A teoria da evolução clonal de Nowel

Em 1976, Nowel propugnou através da teoria da evolução clonal que a maioria das neoplasias origina-se de uma única célula, e que a progressão tumoral seria resultante da seleção de uma subpo-

pulação mais agressiva dentro do clone de origem. A origem e vantagem seletiva deste clone sobre outras populações celulares estariam relacionada ao acúmulo progressivo de mutações genéticas, o que justifica a transição de lesões pré-neoplásicas para o carcinoma invasivo como resultado deste acúmulo (Nowel 1976).

Corroborando com esta teoria, os tumores são reconhecidos como uma população heterogênea cujas células são diferentes em sua capacidade proliferativa, histológica, imunofenotípica e de potencial tumorigênico. Esta heterogeneidade resultante da acumulação aleatória de mutações individuais e sinais do microambiente proporciona vantagem seletiva a determinadas células tumorais (Monroe et al. 2011). No entanto, evidências atuais apontam para a existência de uma nova dimensão de heterogeneidade intratumoral e uma subclasse até então pouco valorizada - as células-tronco tumorais (CTT's) (Hanahan & Weinberg 2011).

A teoria das células-tronco tumorais

A Associação Americana para Pesquisa do Câncer (American Association for Cancer Research) define as células-tronco tumorais como células com capacidade de gerar linhagens de células tumorais heterogêneas e que possuem a capacidade de auto-renovação. Entre suas características importantes encontramos: expressão da telomerase ativa, resistência aos medicamentos que inibem a ativação de vias antiapoptóticas, capacidade de migrar, de formar metástases além do aumento da atividade do transportador de membrana (Tanase et al. 2014).

Origem das células-tronco tumorais

Conceitualmente a principal diferença entre célula-tronco (CT) e CTT está no fato das primeiras regularem o estado de seu microambiente, através do controle da proliferação celular, diferenciação e apoptose (Sun & Qiu 2013).

Existem três hipóteses que tentam explicar a origem das CTT's. No processo de diferenciação normal de uma célula esta se diferencia para formar duas células, diferenciada e primitiva. Uma célula terminalmente diferenciada, é formada a partir de células progenitoras do precursor e finalmente entra em apoptose. As CTT's podem ter origem a partir de uma CT normal (1ª hipótese), de uma célula progenitora normal (2ª hipótese), ou de uma célula diferenciada normal nas quais mutações genéticas ativarão genes de auto-renovação (3ª hipótese) (Shah et al. 2014).

Identificação e isolamento de CTT's

A primeira célula-tronco tumoral (CTT) ou "célula de iniciação do câncer" descrita foi a célula-tronco da leucemia em 1994 por Lapidot et al., porém só a partir dos trabalhos de John Dick e Dominique Bonnet em 1997, com leucemia mielóide crônica, uma CTT pode ser isolada comprovando experimentalmente existir uma organização hierárquica tumoral.

A identificação de CTT's tem sido realizada através do uso de marcadores de superfície celular (Routray & Mohanty 2014). No entanto, não existe consenso sobre quais marcadores definem uma população de CTT's. Questões técnicas adicionais tais como a dificuldade de se fazer suspensões de células simples viáveis de tecidos sólidos tais como cérebro e tecido epitelial, tornam o isolamento de células-tronco tumorais desafiador (Clarke et al. 2006). Ademais, a caracterização e análise das CTT's são limitadas em função de representarem uma diminuta população dentro dos tumores (Kasai et al. 2014).

Modelo hierárquico e modelo da evolução clonal

Alguns estudos sugerem que ambas as teorias não são mutuamente exclusivas, podendo ter impactos diferentes em fases da progressão tumoral, sendo do tipo tumor-específico (Alison et al. 2012). Ademais, pressões de seleção podem facilitar a expansão clonal estocástica de subpopulações de células cancerosas as quais podem coexistir com CTT's e descendentes. Estas células podem alternar entre um estado celular "tronco" e "não-tronco" (Alison et al. 2012). Esta característica de plasticidade das CTT's foi demonstrada ao observar-se que células normais e CTT's podem se reorganizar em células mais diferenciadas, convertendo um estado não-estaminal em estaminal. Essa descoberta foi adicionada ao modelo hierárquico que até então não reconhecia este tipo especial de plasticidade (Chaffer et al. 2011).

Apesar das crescentes evidências apoiarem a conclusão de que alguns cânceres humanos seguem o modelo de CTT's, alguns pesquisadores trouxeram importantes questões referentes ao fato das células com potencial tumorigênico serem raras ou comuns, e se estas células são de fato as únicas com potencial tumorigênico (Quintana et al. 2008, Gupta et al. 2009). A hipótese das CTT's encontra-se apoiada numa minoria populacional tumorigênica, e se considerarmos que células com potencial tumorigênico forem de fato comuns não serão possíveis tratar eficazmente o câncer visan-

do apenas esta pequena subpopulação. A maioria dos estudos baseia-se exclusivamente no potencial proliferativo e de formação tumoral destas células e não realmente em seus destinos no organismo (Gupta et al. 2009).

De acordo com a teoria da hierarquia celular, os primeiros eventos na formação de tumores envolvem a expansão quantitativa de células-tronco. Estratégias que reduzam essa subpopulação podem reduzir o risco de câncer. Um exemplo deste mecanismo refere-se ao uso do tamoxifeno na prevenção do câncer de mama primário. A indução de apoptose ou diferenciação com perda da capacidade de auto-renovação, antes da ocorrência de instabilidade genética significativa nestas células, pode representar uma estratégia racional preventiva. Podemos distinguir duas classes de CTT's: A primeira seria a das células-tronco estacionárias, responsáveis pela resistência a quimioterapia e radioterapia, incapazes de migração. A segunda subclasse, as das células capazes de migrar e responsáveis pelas metástases loco-regionais ou remotas. Estas especificidades das CTT's originam dois fenômenos: os nichos e o processo de transição epitélio-mesenquimal (Wicha et al. 2006).

Nichos e o processo de transição epitélio-mesenquimal

Encontramos CTT's em locais anatômicos denominados nichos. Estes representam um papel fundamental na resistência a quimioterapia e radioterapia além de contribuírem para a manutenção das CTT's, por meio da segregação de fatores a partir das células-tronco e matriz extracelular inibindo sua diferenciação e apoptose e conseqüentemente mantendo a auto-renovação. Além disso, contribuem também na instabilidade genética sobre as CTT's (Allegra & Trapasso 2012).

Diversas condições patológicas tais como inflamação, fibrose e câncer ativam um processo aberrante denominado transição epitélio-mesenquimal. Neste processo as células se dissociam uma das outras perdendo sua expressão de célula epitelial e adquirindo a expressão de marcadores mesenquimais. Com isto alteram sua estrutura de polarização e citoesqueleto estabelecendo novas interações com a célula-matriz. Ao final deste processo, o inverso pode também ocorrer (transição mesenquimal-epitelial). Algumas CTT's sofrem este processo de transição epitélio-mesenquimal adquirindo a capacidade de infiltração tecidual e metástase (Thiery 2002).

Num estudo sobre o impacto da hipóxia sobre

as CTT's no âmbito do microambiente tumoral foi demonstrada que a mesma inibe a diferenciação das células tumorais, e promove a manutenção das CTT's. Deste modo, tumores sólidos que contêm normalmente regiões com aporte insuficiente de oxigênio podem ser iniciadores de interações celulares e sinalização ambiente para a manutenção preferencial de CTT's (Lin & Yun 2010).

Ensaio funcionais na avaliação das características das CTT's

Nas CT normais a demonstração de auto-renovação e capacidade da linhagem são as características de uma CT. Deste modo a atividade das CTT's também são avaliadas por estes critérios clínicos. Embora imperfeito e relativamente moroso (em torno de 6 meses ou mais), o transplante em série em modelos murinos é considerado o melhor ensaio funcional para avaliar a tumorigenicidade e auto-renovação (Kasai et al. 2014).

Medicamentos anti-CTT'S

O desenvolvimento de terapias com maior especificidade e menor toxicidade tem sido a diretriz atual do tratamento do câncer. No entanto, a teoria das CTT's gera uma controvérsia sobre a escolha de alvos terapêuticos. Demonstrou-se que pacientes com câncer tratados com quimioterapia revelaram na verdade um aumento da população de CTT's (Alison et al. 2012).

Em virtude das CTT's serem resistentes aos tratamentos convencionais citorredutores, por se encontrarem frequentemente em repouso, estratégias que visem seletivamente as CTT's mas que poupem as CT normais, como as do intestino e medula óssea necessitam ser desenvolvidas (Nowell 1976).

Uma abordagem promissora demonstrada em vários estudos utiliza-se de agentes farmacológicos moduladores do estado de diferenciação tumoral. A eliminação ou antagonização funcional das CTT's ocorre pela indução da diferenciação celular, resultando na diminuição desta subpopulação (Singh & Settleman 2010).

Estratégias para erradicar as CTT's devem ser basear no controle das vias de regulação Wn, Notch e Hedgehog, atividade ALDH e transportadores ABC, bloqueio da transição epitélio-mesenquimal, além de terapia de indução da diferenciação e segmentação do nicho celular (Alison et al. 2012).

Medicamentos anti-CTT's podem ser divididos em três grandes grupos: o primeiro grupo de produtos biológicos terapêuticos inclui anticorpos

monoclonais (mAbs), vacinas humanas e imunoterapêuticos e terapia baseada em microRNA. O segundo grupo de agentes terapêuticos é o de pequenas moléculas, e o terceiro é o de compostos químicos que não são especificamente projetados para uso contra CTT's, mas que recentemente demonstraram apresentar anti-propriedades CTT's (Skidan & Steiniger 2014).

Pesquisadores tentam encontrar novas terapias dirigidas contra CTT's, devido ao fato das terapias moleculares mostrarem-se mais eficazes, induzindo a regressão tumoral e reduzindo a ocorrência de novas células cancerosas. Dados clínicos e experimentais preliminares demonstram que a terapia do câncer só é eficaz quando a subpopulação de CTT's são completamente erradicadas (Ciurea et al. 2014).

RESULTADOS

Há uma grande probabilidade de que ambas as teorias (teoria da evolução clonal de Nowell e teoria da hierarquia celular) possam coexistir apresentando impactos diferentes nas fases do desenvolvimento tumoral (Alison et al. 2012). No entanto, a crescente comprovação da teoria da hierarquia celular, acrescenta um novo paradigma em termos de tratamento do câncer. Deste modo, terapias citorredutoras, como a quimioterapia e radioterapia as quais vinham sendo utilizadas ao longo dos anos, não causaram impacto positivo sobre a população acíclica de CTT's. Pesquisas recentes demonstram inclusive um aumento desta subpopulação (Alison et al. 2012). Ademais, baseado em dados experimentais preliminares, somente a eliminação das CTT's através do desenvolvimento de drogas-alvo poupadoras de células-tronco normais poderá efetivamente consistir numa terapia curativa do paciente (Ciurea et al. 104). Numerosos compostos que visam a inibição seletiva destas vias de auto-renovação celular especificamente através de marcadores de superfície para veículos de agentes citotóxicos, apresentaram êxito em testes preliminares.

CONCLUSÃO

Investimentos em programas de desenvolvimento de novas drogas anti-CTT's passaram a ser considerados prioritários por empresas biofarmacêuticas em todo o mundo, e deste modo, as perspectivas de uma reorientação de alvos terapêuticos poderão modificar num futuro próximo a forma pela qual tratamos o câncer.

REFERÊNCIAS

- Alison M.R., Lin W.R., Lin S.M. & Nicholson L.J. Cancer stem cells: in the line of fire. *Cancer Treatment Reviews*, 38:589-598, 2012.
- Allegra E. & Trapasso S. Cancer stem cell in head and neck cancer. *OncoTargets and Therapy*, 5:375-383, 2012.
- Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A., Morrison S.J. & Clarke M.F. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America*, 100:3983-3988, 2003.
- Bonnet D. & Dick J.E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Medicine*, 3:730-737, 1997.
- Chaffer C.L., Brueckmann I., Scheel C., Kaestli A.J., Wiggins P.A., Rodrigues L.O., Brooks M., Reinhardt F., Su Y., Polyak K., Arendt L.M., Kuperwasser C., Biebert B. & Weinberg R.A. Normal and neoplastic non stem cells can spontaneously convert to a stem-like state. *Proceedings Of the National Academy of Sciences of the United State of America*, 108:7950-7955, 2011.
- Ciurea M.E., Georgescu A.M., Purcaru S.O., Artene S.A., Emami G.H., Boldeanu M.V., Tache D.E. & Dricu A. Cancer stem cells: biological functions and therapeutically targeting. *International Journal of Molecular Sciences*, 15:8169-85, 2014.
- Civenni G., Walter A., Kobert N., Mihic-Probst D., Zipser M., Belloni B., Seifert B., Moch H., Dummer R., van den Broek M. & Sommer L. Human CD271-positive melanoma stem cells associated with metastasis establish tumor heterogeneity and long-term growth. *Cancer Research*, 71:3098-3119, 2011.
- Collins A.T., Berry P.A., Hyde C., Stower M.J. & Maitland N.J. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Research*, 65:10946-10951, 2005.
- Clarke M.F., Dick J.E., Dirks P.B., Eaves C.J., Jamieson C.H., Jones D.L., Visvader J., Weissman I.L. & Wahl G.M. Cancer stem cells - perspectives on current status and future directions: AACR workshop on cancer stem cells. *Cancer Research*, 66:9339-9344, 2006.
- Gao M.Q., Choi Y.P., Kang S., Youn J.H. & Cho N.H. CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene*, 29:2672-80, 2010. Gupta P.B., Chaffer C.L. & Weinberg R.A. Cancer stem cells: mirage or reality? *Nature Medicine*, 15:1010-1012, 2009a.
- Han J., Fujisawa T., Husain S.R. & Puri R.K. Identification and characterization of cancer stem cells in human head and neck squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*, 14:173, 2014.
- Hanahan D. & Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144:646-674, 2011.
- Ho M.M., Ng A.V., Lam S. & Hung J.Y. Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. *Cancer Research*, 67:4827-4833, 2007. Krishnamurthy S. & Nör J.E. Head and neck cancer stem cells. *Journal of Dental Research*, 91:334-340, 2012.
- Kasai T., Chen L., Mizutani A., Kudoh T., Murakami H., Fu L. & Seno M. Cancer stem cells converted from pluripotent stem cells and the cancerous niche. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine*, 10:2-7 2014.
- Lapidot T., Sirard C., Vormoor J., Murdoch B., Hoang T., Caceres-Cortes J., Minden M., Paterson B., Caligiuri M.A. & Dick J.E. A cell initiating human acute myeloid leukemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 367:645-648, 1994.
- Li C., Heidt D.G., Dalerba P., Burant C.F., Zhang L., Adsay V., Wicha M., Clarke M.F. & Simeone D.M. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Research*, 67:1030-1037, 2007.
- Lin Q. & Yun Z. Impact of the hypoxic tumor microenvironment on the regulation of cancer stem cells characteristics. *Cancer Biology and Therapy*, 9:949-956 2010.
- Monroe M.M., Anderson E.C., Clayburgh D.R. & Wong M.H. Cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Journal of Oncology*, 2011:762-780, 2011.
- Nowell P.C. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 194:23-28 1976. O'Brien C.A., Pollett A., Gallinger S. & Dick J.E. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*, 445:106-110, 2007.
- Quintana E., Shackleton M., Sabel M.S., Fullen D.R., Johnson T.M. & Morrison S.J. Efficient tumor formation by single human melanoma cells. *Nature*, 456:593-598 2008.
- Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F. & Weissman I.L. Stem cells, cancer and cancer stem cells. *Nature*, 414:105-111, 2001.
- Ricci-Vitiani L., Lombardi D.G., Pilozzi E., Biffoni M., Todaro M., Peschle C. & De Maria R. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature*, 445:111-115, 2007.
- Routray S. & Mohanty N. Cancer stem cells accountability in progression of head and neck squamous cell carcinoma: The most recent trends! *Molecular Biology International*, ID 375325, 2014.
- Shah A., Patel S., Pathak J., Swain N. & Kumar S. The evolving concepts of cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Scientific World Journal*, ID 842491:842-491, 2014.
- Singh A. & Settleman J. EMT cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene*, 29:4741-4751, 2010.
- Skidan I. & Steiniger S.C. *In vivo* models for cancer stem cell research: A practical guide for frequently used animal models and available biomarkers. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 65:157-169, 2014.
- Sun S. & Qiu X.S. Cancer stem cells and tumor metastasis. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 9:S150-S152, 2013.
- Tanase C.P., Neagu A.I., Necula L.G., Mambet C., Enciu A.M., Calenic B., Cruceru M.L., Albulescu R. Cancer stem cells: Involvement in pancreatic cancer pathogenesis and perspectives on cancer therapeutics. *World J. Gastroenterology*, 20:10790-10801, 2014.
- Thiery J.P. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nature Reviews Cancer*, 2:442-454, 2002.
- Tirino V., Desiderio V., Paino F., De Rosa A., Papaccio F., Fazioli F., Pirozzi G. & Papaccio G. Human primary bone sarcomas contain CD133+ cancer stem cells displaying high tumorigenicity *in vivo*. *FASEB Journal*, 6:2022-2030, 2011.
- Yamashita T., Ji J., Budhu A., Forgues M., Yang W., Wang H.Y., Jia H., Ye Q., Qin L.X., Wauthier E., Reid L.M., Minato H., Honda M., Kaneko S., Tang Z.Y. & Wang X.W. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features. *Gastroenterology*, 136:1012-24, 2009.
- Wicha M.S., Liu S. & Dontu G. Cancer stem cells: an old idea - a paradigm shift. *Cancer Research*, 66:1883-1896, 2006.