

肿瘤干细胞与实体肿瘤

冯波, 刘炳亚, 陆爱国, 郑民华

冯波, 刘炳亚, 陆爱国, 郑民华, 上海第二医科大学附属瑞金医院普外科, 上海消化外科研究所 上海市 200025
项目负责人: 郑民华, 200025, 上海市瑞金二路 197 号, 上海瑞金医院普外科. zmhtiger@yeah.net
电话: 021-64370045-664558 传真: 021-64333548
收稿日期: 2003-12-12 接受日期: 2004-02-01

摘要

人急性粒细胞性白血病干细胞(LSC)的分离、鉴定及功能研究认为肿瘤起源于干细胞,是一种干细胞疾病.虽然有证据表明,实体肿瘤也存在类似的肿瘤干细胞,但基于条件限制长久以来没有得到分离鉴定.最近具有自我更新和分化能力以及特异表面标志的乳腺癌、脑肿瘤干细胞相继被分离鉴定,提出实体肿瘤是干细胞疾病的理念,认为肿瘤是功能异质性的,只有小部分肿瘤干细胞才有成瘤及维持恶性显型的作用,因此肿瘤的治疗关键应是针对肿瘤干细胞的治疗,这对传统的肿瘤治疗方式提出了巨大的挑战.作为新课题,实体肿瘤干细胞的起源、研究方法、研究内容及进一步研究方向尚需探讨,但是肿瘤干细胞研究对实体肿瘤发生发展机制的阐明、治疗新靶点的发现等将产生深远影响.

冯波, 刘炳亚, 陆爱国, 郑民华. 肿瘤干细胞与实体肿瘤. 世界华人消化杂志 2004;12(4):979-982

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/979.asp>

0 引言

干细胞(stem cells)是一类未分化的细胞或原始细胞,多潜能分化及自我更新能力是其两个主要生物学特性^[1-8].继造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)的发现^[9-13],许多学者提出肿瘤干细胞假说,即肿瘤起源于正常干细胞遗传突变的积累^[10, 14-15].1994年Lapidot et al^[16]首次通过特异细胞表面标志分离出了人急性粒细胞性白血病干细胞(leukemic stem cells, LSC),发现只有LSC才具有不断自我更新维持其恶性显型的作用,证明了肿瘤干细胞的客观存在.最近乳腺癌^[17]和脑瘤^[18]中相继分离纯化出了具有特异表面标志的肿瘤干细胞,开创了实体肿瘤干细胞研究的新局面,并提出实体肿瘤也是一种干细胞疾病的理念^[17-18].

1 理论依据

1.1 Stochastic 与 Hierarchy 学说 许多肿瘤移植动物实验表明,只有当注射(皮下或股部)肿瘤细胞数大于 10^6 时才能在局部形成肿瘤,由此产生了两种肿瘤形成学说,即 Stochastic 与 Hierarchy 学说^[19],分别解释了为何不

是每个肿瘤细胞都能再接种形成移植瘤. Stochastic学说认为所有肿瘤细胞是功能同质的,每个肿瘤细胞都有再形成肿瘤的能力,但其进入细胞周期增生分裂是由一些低概率的随机事件控制.因此,要阐明肿瘤的生物特性必须研究全部肿瘤细胞.而 Hierarchy 学说认为,肿瘤细胞在功能上存在很大的异质性,只有极小部分肿瘤起源细胞(tumor-initiating cell, T-IC)才有成瘤能力,且成瘤率较高.这种 T-IC 即为肿瘤干细胞,与其他肿瘤细胞不同,其具有自我更新和分化能力,因此应该成为肿瘤研究的靶点.

1.2 造血系统肿瘤干细胞 造血系统是研究干细胞较好的模式,目前研究较为深入.早在 1960 年代就曾发现一些来自小鼠腹水的骨髓瘤细胞只有很少一部分(1/10 000-1/100)能在体外克隆形成试验形成克隆,只有 1-4% 的移植白血病细胞能在脾脏形成克隆^[19-20].肿瘤细胞克隆形成能力的差异提示造血系统肿瘤是异质的,可能存在为数极少的肿瘤干细胞,只有后者才有成瘤能力.而近年来一种以 CD34⁺CD38⁻ 为特异表面标志的细胞在急性粒细胞白血病(AML)中得到分离纯化,能转移入 AML 至 NOD/SCID 小鼠,在其体内形成 AML,被命名为 SCID 白血病起源细胞(SCID leukemia-initiating cells, SL-IC)^[16, 21-22],这种细胞即人 LSC.

1.3 实体肿瘤的复发和转移 目前临床上对实体肿瘤的治疗都是针对其全部的肿瘤细胞,而评价治疗手段的有效与否一般都是以肿瘤的消退或缓解程度为标准.虽然肿瘤能达到消退或缓解,但往往在一段时间后会复发,这也是肿瘤患者 5 a 生存率低的主要原因^[23-24].这可能与肿瘤干细胞的存在有关,因为干细胞相对于已分化细胞或成熟细胞对凋亡更不敏感,继续存活而成为复发的根源^[25-26].大约 30% 乳腺癌患者临床确诊时已经存在骨髓的微转移,但 5 a 后其中只有 50% 的患者显示转移征象,这可能与转移的肿瘤细胞是不是肿瘤干细胞有关^[17, 26].

2 实体肿瘤干细胞的发现及起源

2.1 实体肿瘤干细胞的发现 早在 1960/1970 年代,许多学者已找到实体肿瘤干细胞存在的实验依据:实体肿瘤细胞存在异质性,只有小部分细胞有克隆形成能力. Hamburger et al^[27]发现只有 1/1 000-1/5 000 的肺癌、卵巢癌与神经母细胞瘤细胞有能力在体外软琼脂培养基上形成克隆(细胞克隆培养),这与 LSC 有很大的相似性,是一种“癌干细胞(cancer stem cells)”.但是由

于当时实验技术等限制尚未对其进行分离纯化。最近, Al-Hajj et al^[17]通过特异性的细胞表面标志率先在人乳腺癌中分离纯化出“乳腺癌干细胞(breast cancer initiating cells, BRCA-IC)”, 这种细胞以 $\text{Lin}^- \text{ESA}^+ \text{CD44}^+ \text{CD24}^{-/\text{low}}$ 为特异细胞表面标志, 只占肿瘤细胞的2%。通过有限稀释分析发现其在NOD/SCID小鼠的成瘤能力至少是其他肿瘤细胞的50倍, 即使少于100个细胞也能在小鼠体内成瘤, 而且能体内连续传代。研究还发现由这种BRCA-IC形成的小鼠移植瘤与原先BRCA-IC来源的人乳腺癌组织具有相同的显型, 即移植瘤既含有这种BRCA-IC又具有其他肿瘤细胞。提示极强的自我复制更新能力与不断分化能力是BRCA-IC两个主要特性。BRCA-IC的发现证实了实体肿瘤干细胞的存在, 为其他实体肿瘤干细胞的发现提供了理论支持^[28-29]。Singh et al^[18]在包括成神经管细胞瘤、星形细胞瘤、室管膜细胞瘤及神经节神经胶质瘤在内的一系列脑部肿瘤中分离出 CD133^+ 的“脑肿瘤干细胞(brain tumor stem cells, BTSC)”。研究发现各种病理类型脑肿瘤的BTSC体外培养均能形成神经球样克隆(neurosphere-like colonies), 称为肿瘤球(tumor spheres)。BTSC与BRCA-IC相似, 具有很强的自我更新和分化能力, 其形成肿瘤球的细胞显型与原位肿瘤是一样的。此外, BTSC还存在染色体的异常, 即10号, 16号染色体缺失, 18号染色体增加, 核型为45 XY^[18]。提示BTSC已经从其正常来源的细胞发生遗传转变, 可以解释其恶性增生和分化。

2.2 实体肿瘤干细胞的起源 正常组织干细胞与肿瘤细胞存在很多共同点^[30]。迄今, 肿瘤干细胞起源于何种细胞尚未有定论, 目前有两种假说^[30, 14]。(1)由于正常干细胞, 包括HSC已经存在被激活的自我更新机制, 获得较少突变即有可能恶性转化, 而且干细胞存活时间较长, 有更多的突变机会形成肿瘤干细胞; (2)一些已经开始分化的原始细胞或成熟细胞也有可能在此前重新获得自我更新能力, 经历突变形成肿瘤干细胞(图1)。正常HSC表面标志为 $\text{Lin}^- \text{CD34}^+ \text{CD38}^- \text{Thy-1}^+$, 而LSCs为 $\text{Lin}^- \text{CD34}^+ \text{CD38}^- \text{Thy-1}^-$, 二者的差别只在于Thy-1的表达与否, 因此Thy-1⁻的原始细胞或者丢失Thy-1表达的HSC都有可能经历突变而恶性转化为肿瘤干细胞^[31-32]。此外, Notch 细胞信号转导途径的激活^[33-37]、Wnt 信号途径的失调^[38-41]、Shh-Gli 途径的下调^[42-46]等诸多信号转导途径与造血系统、表皮组织、乳腺组织以及肠上皮组织的干细胞自我更新、增生、分化失调而致恶性转化有关, 而这些研究尚处于初始阶段。

3 研究方法和意义

3.1 肿瘤干细胞的分离纯化 近年来, 干细胞研究的发展很大程度上依赖于细胞分化抗原的研究进展。细胞表面特异性标志的确定是肿瘤干细胞分离的第一步。一般原则为结合谱系标志(Lineage-), 正常干细胞特异标志(如分离BTSC的CD133与分离LSCs的CD34)以及正常

组织特异性标志(如上皮特异性标志ESA)等综合评价, 很多学者认为结合阳性标志和阴性标志可以更有效的分离干细胞(如BRCA-IC为 $\text{CD44}^+ \text{CD24}^-$)。研究发现Sca-1与keratin-6^[47]、integrin $\beta 1$ ^[48] Musashi-1与Hes1^[49-50]等表面标志可作为肠干细胞分离的标志, 也可作为结肠癌干细胞分离的参考。目前高通量的细胞分选系统主要有: 磁性细胞分选系统和流式细胞技术(FACS)。分离过程主要分为两步^[17]: 首先分别按各细胞表面标志进行细胞群(包括细胞表面分子+与-细胞)的筛选, 各细胞群按不同细胞浓度接种NOD/SCID小鼠, 观察肿瘤生长, 比较各组成瘤能力, 筛选出优势细胞表面标志。其次针对几种优势细胞表面标志进行组合(例如A+B-C+), 筛出各组合的细胞群, 各按不同浓度组接种NOD/SCID小鼠, 比较各细胞群成瘤能力, 确定目的细胞。

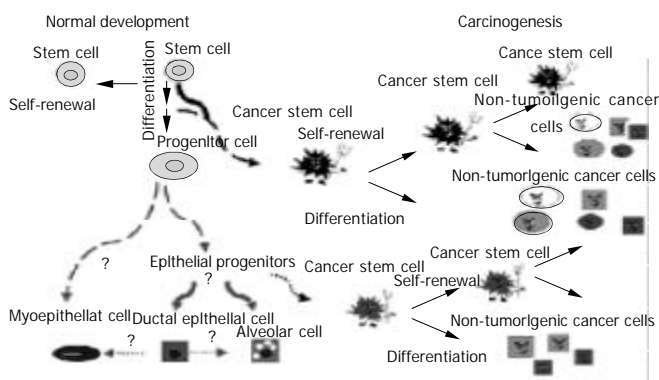


图1 干细胞在正常乳腺生长与乳腺癌发生中的作用(Dontu et al).

3.2 肿瘤干细胞的鉴定 目前尚不能从形态学来鉴定干细胞, 而尝试从功能学方法, 即对其自我更新能力与不断分化能力两个主要特性进行评价是干细胞鉴定的主要方法^[51]。Al-Hajj et al^[17]将人原位或胸水转移癌细胞根据细胞表面标志进行筛选, 将筛选的特定细胞群以不同浓度在NOD/SCID小鼠乳腺脂肪板进行体内接种, 发现 $\text{Lin}^- \text{ESA}^+ \text{CD44}^+ \text{CD24}^{-/\text{low}}$ 细胞不仅有很强的成瘤能力, 而且可以在小鼠体内连续传代, 表明其自我更新复制能力; 而体外培养显现极强的肿瘤球形成能力亦可评价BTSC自我复制的能力^[18]。对BRCA-IC与BTSC分化能力的评价是通过对其形成的移植瘤或体外肿瘤球细胞显型的分析。研究发现这种移植瘤或肿瘤球中含有的与原BRCA-IC、BTSC一样的干细胞是其自我更新的结果, 而大量无特异表面标志的其他异质肿瘤细胞则是其异常分化的产物。

3.3 未来研究方向 (1)加强对正常组织干细胞生物学行为、细胞表面标志的研究, 为更多实体肿瘤干细胞的分离鉴定提供理论支持; (2)最近研究表明, 成体干细胞、造血干细胞、神经干细胞还有胚胎干细胞的基因表达谱存在很大的重叠性, 包括激活的TGF- β 、生长激素与凝血酶受体信号途径以及ABC家族膜转运蛋白等的高表达, 这赋予了这些细胞的“干细胞性”^[15, 52-53]。Dontu et al^[54]用基因芯片研究比较了正常乳腺干细胞样

细胞与其分化的成熟乳腺细胞的基因表达谱也发现这种干细胞样细胞存在类似基因的高表达, 有证据已经表明这些基因的失调与乳腺癌的发病有关. 因此研究实体肿瘤干细胞与正常组织干细胞及其他异质肿瘤细胞的基因表达谱, 并对其差异基因进行功能研究, 可以阐明肿瘤干细胞的起源以及肿瘤发生发展的基本机制, 从而可以寻找实体肿瘤治疗的新靶点; (3)Notch^[33-37]、Wnt^[38-41]、Shh-Gli^[42-46]及BMI1^[55-56]等细胞信号转导途径与造血系统、表皮组织、乳腺组织以及肠上皮组织的干细胞自我更新、增生、分化有关, 也与肿瘤的发生发展有关, 研究实体肿瘤干细胞与其他肿瘤细胞这些信号转导途径的差异有助于阐明肿瘤的发病机制; (4)实体肿瘤干细胞的含量极少且不断分化, 所以发展高效的体外培养系统、细胞扩增技术以及维持干细胞未分化状态技术是今后研究的艰巨任务^[54].

3.4 实体肿瘤干细胞的研究意义 (1)乳腺癌和脑瘤干细胞的发现、分离及鉴定证明了Hierarchy学说的正确性, 即只有小部分肿瘤干细胞才有成瘤能力并维持肿瘤显型. 干细胞表达MDR1与ABC转运蛋白等耐药分子^[57-58], 对化疗与凋亡不敏感^[59-60]. 如果肿瘤干细胞高表达这类分子, 也有可能对治疗耐受, 这解释了肿瘤治疗后的复发转移^[17, 26]. (2)肿瘤的发病机制尚未阐明^[61-62], 对实体肿瘤干细胞遗传属性、生物学行为、信号转导等进行系统研究, 有助于从根本上阐明肿瘤的发生发展机制. (3)传统肿瘤治疗都是针对所有的肿瘤细胞, 而且认为肿瘤细胞具有功能同质性. 而实际上如果肿瘤是源于肿瘤干细胞, 是一种干细胞疾病, 我们先前诸多关于肿瘤发生发展机制、细胞信号途径等的研究成果需要重新评价, 因为肿瘤干细胞的生物学行为与其他肿瘤细胞可能存在质的差别. 最新研究表明, 联合黄胆素与蛋白酶抑制剂能选择性杀伤LSC, 但对正常HSC无影响^[63], 有效的治疗需要选择性杀伤肿瘤干细胞^[31], 这对传统治疗提出极大的挑战. (4)通过对肿瘤干细胞基因表达谱、生物学行为以及功能的不断深入研究, 可以阐明其遗传机制、恶性转化路径, 从而发掘针对干细胞的治疗新靶点, 为临床彻底根治肿瘤展示了新希望.

总之, 实体肿瘤干细胞的发现无疑给全世界学者一个很大的惊喜, 而就像对待其他新事物一样我们需要对其进行更多的研究. 尝试从胃肠道肿瘤、肺肿瘤、皮肤肿瘤等分离出类似的肿瘤干细胞并对其进行系统的研究是我们努力的方向.

4 参考文献

- 姜佳丽, 万小平, 张琳, 展玉涛. 胰腺干细胞. 世界华人消化杂志 2003;11:1740-1742
- 展玉涛, 任继萍. 肝脏干细胞. 世界华人消化杂志 2003;11:1735-1737
- 姜佳丽, 王虹, 展玉涛. 肠道干细胞. 世界华人消化杂志 2003;11:1730-1732
- 王天佑, 展玉涛. 胃干细胞. 世界华人消化杂志 2003;11:1727-1730
- 王宇明, 陈耀凯. 肝干细胞的研究进展. 世界华人消化杂志 2002;10:337-342
- 万东君, 李六金, 王春雨. 肝干细胞研究现状. 世界华人消化杂志

- 2002;10:452-454
- 张刚庆, 方驰华. 干细胞研究的问题与对策. 世界华人消化杂志 2003;11:2011-2014
- Zhang Y, Bai XF, Huang CX. Hepatic stem cells: existence and origin. *World J Gastroenterol* 2003;9:201-204
- Spangrude GJ, Heimfeld S, Weissman IL. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science* 1988;241:58-62
- Osawa M, Hanada K, Hamada H, Nakauchi H. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science* 1996;273:242-245
- Spangrude GJ, Heimfeld S, Weissman IL. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science* 1988;241:58-62
- Morrison SJ, Weissman IL. The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. *Immunity* 1994;1:661-673
- Lecuyer E, Hoang T. SCL: from the origin of hematopoiesis to stem cells and leukemia. *Exp Hematol* 2004;32:11-24
- Passequé E, Jamieson CH, Ailles LE, Weissman IL. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:11842-11849
- Marx J. Cancer research. Mutant stem cells may seed cancer. *Science* 2003;301:1308-1310
- Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, Minden M, Paterson B, Caligiuri MA, Dick JE. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994;367:645-648
- Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:3983-3988
- Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, Dirks PB. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003;63:5821-5828
- Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001;414:105-111
- Bruce WR, Van Der Gaag H. A quantitative assay for the number of murine lymphoma cells capable of proliferation *in vivo*. *Nature* 1963;199:79-80
- Blair A, Hogge DE, Ailles LE, Lansdorp PM, Sutherland HJ. Lack of expression of Thy-1 (CD90) on acute myeloid leukemia cells with long-term proliferative ability *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 1997;89:3104-3112
- Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997;3:730-737
- 卿三华. 结、直肠癌临床病理分期系统及其临床意义. 世界华人消化杂志 2003;11:1760-1763
- Harris GJ, Senagore AJ, Lavery IC, Church JM, Fazio VW. Factors affecting survival after palliative resection of colorectal carcinoma. *Colorectal Dis* 2002;4:31-35
- Dick JE. Breast cancer stem cells revealed. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:3547-3549
- Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:895-902
- Hamburger AW, Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science* 1977;197:461-463
- Waterworth A. Introducing the concept of breast cancer stem cells. *Breast Cancer Res* 2004;6:53-54
- Welm AL. AACR Special Conference: Advances in breast cancer research-genetics, biology, and clinical implications, huntington beach, california, USA, 8-12 October 2003. *Breast Cancer Res* 2004;6:E6
- Dontu G, Al-Hajj M, Abdallah WM, Clarke MF, Wicha MS. Stem cells in normal breast development and breast cancer. *Cell Prolif* 2003;36(Suppl 1):59-72
- Miyamoto T, Weissman IL, Akashi K. AML1/ETO-expressing nonleukemic stem cells in acute myelogenous leukemia with 8;21 chromosomal translocation. *Proc Natl Acad Sci USA*

- 2000;97:7521-7526
- 32 Miyamoto T, Nagafuji K, Akashi K, Harada M, Kyo T, Akashi T, Takenaka K, Mizuno S, Gondo H, Okamura T, Dohy H, Niho Y. Persistence of multipotent progenitors expressing AML1/ETO transcripts in long-term remission patients with t (8;21) acute myelogenous leukemia. *Blood* 1996;87:4789-4796
 - 33 Soriano JV, Uyttendaele H, Kitajewski J, Montesano R. Expression of an activated Notch4(int-3) oncoprotein disrupts morphogenesis and induces an invasive phenotype in mammary epithelial cells *in vitro*. *Int J Cancer* 2000;86:652-659
 - 34 Clarke RB, Anderson E, Howell A, Potten CS. Regulation of human breast epithelial stem cells. *Cell Prolif* 2003;36(Suppl 1): 45-58
 - 35 Pear WS, Aster JC, Scott ML, Hasserjian RP, Soffer B, Sklar J, Baltimore D. Exclusive development of T cell neoplasms in mice transplanted with bone marrow expressing activated Notch alleles. *J Exp Med* 1996;183:2283-2291
 - 36 Varnum-Finney B, Xu L, Brashem-Stein C, Nourigat C, Flowers D, Bakkour S, Pear WS, Bernstein ID. Pluripotent, cytokine-dependent, hematopoietic stem cells are immortalized by constitutive Notch1 signaling. *Nat Med* 2000;6:1278-1281
 - 37 Henrique D, Hirsinger E, Adam J, Le Roux I, Pourquie O, Ish-Horowicz D, Lewis J. Maintenance of neuroepithelial progenitor cells by Delta-Notch signalling in the embryonic chick retina. *Curr Biol* 1997;7:661-670
 - 38 Polakis P. The oncogenic activation of beta-catenin. *Curr Opin Genet Dev* 1999;9:15-21
 - 39 Zhu AJ, Watt FM. Beta-catenin signalling modulates proliferative potential of human epidermal keratinocytes independently of intercellular adhesion. *Development* 1999;126:2285-2298
 - 40 Willert K, Brown JD, Danenberg E, Duncan AW, Weissman IL, Reya T, Yates JR 3rd, Nusse R. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature* 2003;423:448-452
 - 41 Reya T, Duncan AW, Ailles L, Domen J, Scherer DC, Willert K, Hintz L, Nusse R, Weissman IL. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature* 2003;423:409-414
 - 42 Ruiz i Altaba A, Sanchez P, Dahmane N. Gli and hedgehog in cancer: tumours, embryos and stem cells. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:361-372
 - 43 Wechsler-Reya RJ, Scott MP. Control of neuronal precursor proliferation in the cerebellum by Sonic Hedgehog. *Neuron* 1999;22:103-114
 - 44 Taylor MD, Liu L, Raffel C, Hui CC, Mainprize TG, Zhang X, Agatep R, Chiappa S, Gao L, Lowrance A, Hao A, Goldstein AM, Stavrou T, Scherer SW, Dura WT, Wainwright B, Squire JA, Rutka JT, Hogg D. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nat Genet* 2002;31:306-310
 - 45 Lai K, Kaspar BK, Gage FH, Schaffer DV. Sonic hedgehog regulates adult neural progenitor proliferation *in vitro* and *in vivo*. *Nat Neurosci* 2003;6:21-27
 - 46 Wetmore C. Sonic hedgehog in normal and neoplastic proliferation: insight gained from human tumors and animal models. *Curr Opin Genet Dev* 2003;13:34-42
 - 47 Welm B, Behbod F, Goodell MA, Rosen JM. Isolation and characterization of functional mammary gland stem cells. *Cell Prolif* 2003;36(Suppl 1):17-32
 - 48 Fujimoto K, Beauchamp RD, Whitehead RH. Identification and isolation of candidate human colonic clonogenic cells based on cell surface integrin expression. *Gastroenterology* 2002; 123:1941-1948
 - 49 Kayahara T, Sawada M, Takaishi S, Fukui H, Seno H, Fukuzawa H, Suzuki K, Hiai H, Kageyama R, Okano H, Chiba T. Candidate markers for stem and early progenitor cells, Musashi-1 and Hes1, are expressed in crypt base columnar cells of mouse small intestine. *FEBS Lett* 2003;535:131-135
 - 50 Potten CS, Booth C, Tudor GL, Booth D, Brady G, Hurley P, Ashton G, Clarke R, Sakakibara S, Okano H. Identification of a putative intestinal stem cell and early lineage marker; musashi-1. *Differentiation* 2003;71:28-41
 - 51 Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science* 2000;287:1442-1446
 - 52 Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA, Lemischka IR. A stem cell molecular signature. *Science* 2002; 298:601-604
 - 53 Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, Mulligan RC, Melton DA. "Stemness": transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells. *Science* 2002;298:597-600
 - 54 Dontu G, Abdallah WM, Foley JM, Jackson KW, Clarke MF, Kawamura MJ, Wicha MS. In vitro propagation and transcriptional profiling of human mammary stem/progenitor cells. *Genes Dev* 2003;17:1253-1270
 - 55 Park IK, Qian D, Kiel M, Becker MW, Pihlaja M, Weissman IL, Morrison SJ, Clarke MF. Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing haematopoietic stem cells. *Nature* 2003; 423:302-305
 - 56 Lessard J, Sauvageau G. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature* 2003; 423:255-260
 - 57 Chaudhary PM, Roninson IB. Expression and activity of P-glycoprotein, a multidrug efflux pump, in human hematopoietic stem cells. *Cell* 1991;66:85-94
 - 58 Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, Colapietro AM, Sampath J, Morris JJ, Lagutina I, Grosveld GC, Osawa M, Nakauchi H, Sorrentino BP. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat Med* 2001;7:1028-1034
 - 59 Pallis M, Russell N. P-glycoprotein plays a drug-efflux-independent role in augmenting cell survival in acute myeloblastic leukemia and is associated with modulation of a sphingomyelin-ceramide apoptotic pathway. *Blood* 2000;95:2897-2904
 - 60 Johnstone RW, Cretney E, Smyth MJ. P-glycoprotein protects leukemia cells against caspase-dependent, but not caspase-independent, cell death. *Blood* 1999;93:1075-1085
 - 61 李洁, 刘芝华. 食管癌中的等位基因缺失. 世界华人消化杂志 2003;11:1777-1781
 - 62 Fearnhead NS, Wilding JL, Bodmer WF. Genetics of colorectal cancer: hereditary aspects and overview of colorectal tumorigenesis. *Br Med Bull* 2002;64:27-43
 - 63 Guzman ML, Swiderski CF, Howard DS, Grimes BA, Rossi RM, Szilvassy SJ, Jordan CT. Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:16220-16225