

胃癌干细胞的研究进展

刘龚孜子, 周 鎔, 谢 川, 杨 桢, 吕农华

■背景资料

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 病死率居高不下, 严重影响人们健康, 其发病机制目前仍不清楚, 近来研究提示胃癌可能是一种干细胞疾病。

刘龚孜子, 周鎔, 谢川, 杨桢, 吕农华, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省消化系疾病研究所 江西省消化病研究重点实验室 江西省南昌市 330006

作者贡献分布: 本文综述由刘龚孜子、周鎔及谢川完成; 杨桢修改; 吕农华审核。

通讯作者: 吕农华, 教授, 主任医师, 博士生导师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科。

lunonghua@163.com

电话: 0791-8692705 传真: 0791-8623153

收稿日期: 2011-11-11 修回日期: 2012-01-10

接受日期: 2012-01-21 在线出版日期: 2012-03-08

Recent advances in research of gastric cancer stem cells

Gong-Meizi Liu, Chun Zhou, Chuan Xie, Zhen Yang, Nong-Hua Lv

Gong-Meizi Liu, Chun Zhou, Chuan Xie, Zhen Yang, Nong-Hua Lv, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Gastroenterology Institute of Jiangxi Province; The Key Laboratory of Digestive Diseases of Jiangxi Province, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Nong-Hua Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lunonghua@163.com

Received: 2011-11-11 Revised: 2012-01-10

Accepted: 2012-01-21 Published online: 2012-03-08

Abstract

Gastric cancer is a common malignancy of the digestive tract that has a high mortality and seriously affects people's health. At present, the pathogenesis of gastric cancer is still unclear. According to the cancer stem cell theory, cancer stem cells are malignant cells with the characteristics of normal stem cells, probably formed by the mutation of normal stem cells. Tumor stem cells have been identified in a variety of solid tumors. Recent studies have shown that the location of gastric cancer is consistent with the settlement area of stem cells, indicating that gastric cancer may be a kind of stem cells disease. In this article we will review the existence, origin, identification and separation of cancer stem cells.

Key Words: Gastric cancer stem cells; Bone marrow mesenchymal stem cells; Isolation and purification

Liu GMZ, Zhou C, Xie C, Yang Z, Lv NH. Recent advances in research of gastric cancer stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(7): 574-579

摘要

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 病死率居高不下, 严重影响人们健康, 其发病机制目前仍不清楚。随着对肿瘤与干细胞之间关系的研究, 提出了肿瘤干细胞理论, 认为肿瘤干细胞是具有正常干细胞特性的恶性细胞, 可能是由正常干细胞突变而来。目前已在多种实体肿瘤中鉴定出肿瘤干细胞。近来研究表明胃癌发生部位与胃干细胞定居部位一致, 提示胃癌可能是一种干细胞疾病, 本文就胃癌干细胞的存在、来源、鉴定及其分离方法等进行综述。

关键词: 胃癌干细胞; 骨髓间充质干细胞; 分离纯化

刘龚孜子, 周鎔, 谢川, 杨桢, 吕农华. 胃癌干细胞的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(7): 574-579

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/574.asp>

0 引言

正常干细胞存在于多数成体组织中, 包括脑、骨髓以及胃肠道。这些干细胞具有自我更新能力, 并可不对称分裂产生祖细胞, 并最终分化为上皮细胞。近年来, 随着对肿瘤起源和发病机制的认识加深, 提出了肿瘤干细胞理论。目前胃癌的发病机制不清楚, 但越来越多的研究提示胃癌可能是一种干细胞疾病, 认为干细胞的分化异常与胃癌发生密切相关, 胃癌细胞中可能存在胃癌干细胞。但由于缺乏特异性表面标志物, 目前还没有理想的技术分离纯化出人胃癌干细胞, 我们只能通过形态学与功能上的特点分离鉴定胃癌干细胞。

1 肿瘤干细胞学说

19世纪欧洲病理学家首次提出肿瘤干细胞假说, 认为肿瘤组织本身是一个异质体, 与正常组织一样, 均由处于各种分化阶段的细胞组成。其中有少数的干细胞样细胞, 具有自我更新和分化

■同行评议者

王健生, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

潜能, 为肿瘤形成细胞. 因为其能通过不对称分裂产生大量具有增殖能力的子代细胞, 所以, 在肿瘤发生、发展和转移中起重要作用. 这种细胞就即称为肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC). 但限于当时的条件, 该学说仅限于理论^[1,2]. 直至 Dick等^[3,4]十多年前第1次在人急性髓系细胞白血病中发现了肿瘤干细胞的存在, 这些表面标记CD34+/CD38-的白血病干细胞能够在非肥胖糖尿病/严重联合免疫缺陷型小鼠(non-obese diabetic/severe combined immunodeficiency mice, NOD/SCID)体内形成急性髓系白血病的转移灶. 目前国内外把候选肿瘤干细胞种植入NOD/SCID小鼠, 观察其致瘤、分化潜能, 同时体外无血清培养观察是否具有致瘤性已成为确定肿瘤干细胞的金标准^[5]. 大量研究报道, 已成功地从乳腺癌^[6]、脑肿瘤^[7]、前列腺癌^[8]、黑色素瘤^[9]、肝癌^[10]、胰腺癌^[11, 12]、结肠癌^[13-15]、头颈部肿瘤^[16]及多发性骨髓瘤^[17]等肿瘤中分离出了肿瘤干细胞. 新近报道显示, 已有研究者从胰腺癌中分离出肿瘤干细胞^[18], 同时在这些研究中发现, 这些肿瘤干细胞只占肿瘤细胞中极少一部分但却有很强的致瘤性. 美国科学家在最近的癌症协会研讨会上达成共识, 定义肿瘤干细胞即肿瘤细胞中具有自我更新能力并且能够导致肿瘤组织异质性的细胞^[19].

近年来, “肿瘤启动细胞”已逐渐取代“肿瘤干细胞”一词在实验研究中被广泛采用^[20]. 这也揭示了肿瘤干细胞学说存在争议, 但对其存在和基本特性已得到公认. 虽然目前还没有明确证据证明胃癌干细胞的存在, 但仍然很多数据支持肿瘤干细胞存在于大多数实体肿瘤的学说^[21, 22].

2 胃癌干细胞

2.1 肿瘤干细胞的鉴定标准 通常用两种不同的方法来鉴定肿瘤干细胞, 一种是体外法. 体外培养法又称“球形集落形成法”, 根据肿瘤干细胞定义可知肿瘤干细胞具备自我更新和增殖、分化能力, 同时具有致瘤性. 该法应用只含表皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子的无血清、无黏附间质培养法从候选细胞中分离出具有球形集落能力的细胞, 证明细胞具有自我更新能力^[23-27]. 目前, 已有大量研究员运用体外培养法筛选出具有球形集落能力的肿瘤细胞. 另一种是体内法, 将所筛选出的具有球形集落能力的肿瘤细胞转移至SCID/NOD鼠皮下或特异

器官位点, 证明其具有致瘤性, 这已成为证明肿瘤干细胞存在的金标准^[23, 28].

2.2 胃癌干细胞的存在依据 2008年, Takaishi等^[21], 采用逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)和荧光流式细胞激活分选技术(FACS)检测发现人胃癌细胞株中可分出CD44+和CD44-细胞亚群. 将CD44+表型细胞移植入NOD/SCID鼠皮下和胃浆膜下能形成胃癌转移瘤. CD44-表型的细胞植入NOD/SCID鼠体内未形成肿瘤, 表明CD44+细胞具有很强致瘤能力. 进一步研究发现CD44+表达的胃癌细胞中约有1%-10%的细胞在体外无血清培养液中可以形成球形集落, 而CD44-表达细胞则不能形成集落, 由此证明该种细胞具有自我更新能力. 2011年, 张朝军等^[29]同样采用RT-PCR和FACS技术从人胃癌细胞株AGS中分出CD44+CD24+和CD44-CD24-细胞亚群, 并证实CD44+CD24+细胞植入NOD/SCID鼠体内有很高成瘤率同时在体外无血清培养可形成球形集落以证实该细胞具有自我更新能力. 以上研究证明CD44+CD24+细胞极有可能为胃癌肿瘤干细胞.

Oct-4是一种维持细胞自我更新和调节细胞多能性状态最主要的转录因子, 是干细胞相关标志物^[30, 31]. Ezech等^[32]和Yaser等^[33]分别在乳腺癌、膀胱癌组织中检测到了Oct-4的表达, 并与癌旁组织比较差异有统计学意义, 但Oct-4在胃癌中的表达情况文献报道甚少^[34]. 秦薇等^[35]研究发现, Oct-4在63例胃癌患者癌组织中的阳性表达率为80.95%, 显著高于癌旁组织阳性表达率(5.20%). 表明胃癌组织中可能含有表达Oct-4的胃癌干细胞, 具有促进胃癌形成和维持胃癌干细胞自我更新或不断增殖的活性^[31]. 以上研究进一步证明胃癌干细胞的客观存在.

2.3 胃癌干细胞与胃成体干细胞 目前对于胃癌干细胞的起源尚无明确的结论, 普遍认为可能来源于由胃正常成体干细胞转化. 胃干细胞是有自我更新和复制能力的原始细胞, 主要位于胃颈、峡部的生发中心, 可分化为不同类型的上皮细胞, 属于成体干细胞^[36, 37]. 正常状态下, 干细胞处在自己的微环境中, 在各种因子的调控下, 不断增殖分化来维持组织与机体的稳定^[38], 当干细胞所处的微环境发生改变或干细胞内部基因发生突变时, 干细胞的增殖分化不再受调控, 从而转变成了癌干细胞, 因此在胃癌的发生发展过程中, 胃成体干细胞很有可能就是向胃癌干细胞转变的靶细胞^[39]. 虽然胃成体干细胞或

■研发前沿

明确胃癌干细胞的存在、功能来源及其分离纯化方法, 进而探索胃癌诊断与干细胞靶向治疗, 是目前乃至今后的研究热点.

■相关报道

目前已有大量研究证实,在多种实体肿瘤中存在并分离出了肿瘤干细胞。

祖细胞可能是胃癌干细胞的来源,但无明确的实验依据来证实。

2.4 胃癌干细胞与骨髓来源细胞 骨髓来源细胞(bone marrow derived dendritic cell, BMDC)被认为是最原始的非定向分化的成体干细胞,他们与骨髓间充质干细胞均有广泛的可塑性并可以通过外周器官迁移至炎症或组织损伤部位。骨髓来源细胞或骨髓间充质干细胞分化模式和生长调控很大程度上取决于迁移部位提供的相应信号和提示^[40-42]。

目前已有研究证实在鼠和人体内,骨髓间充质干细胞可以分化为肠上皮肌纤维细胞^[40]、成纤维细胞及平滑肌细胞^[20],这些结果证明了在人类炎症性疾病的治疗过程中成人骨髓基质细胞的重要性,提示骨髓来源细胞可能有助于消化系多个细胞系的再生。而最新的研究表明,骨髓干细胞移植可能引起胃癌。

2004年, Houghton等^[43]应用已经建立的半乳糖苷酶转基因小鼠模型,进行致死剂量放疗后输入表达半乳糖苷酶的转基因小鼠的骨髓,用半乳糖苷酶染色来追踪骨髓细胞。研究发现在感染幽螺杆菌时,骨髓来源的干细胞会移植到小鼠胃,并通过组织化生和异型增生产生胃癌,而非感染幽门螺杆菌小鼠胃中未检测到骨髓来源干细胞的定植,这项研究提示胃癌干细胞可能起源骨髓干细胞。

骨髓来源细胞可能通过细胞模拟、细胞融合或者是直接异常分化而导致胃癌发生。最近研究表明细胞融合是骨髓来源肝细胞或肠道细胞形成的机制^[44-48],但是否为胃上皮细胞形成的机制尚不确定,待进一步研究。现研究普遍认为胃肠道间质瘤起源于间质干细胞。

3 胃癌干细胞的分离纯化

现阶段缺乏特异性标志物,对调节胃癌干细胞增殖分化的分子通路了解甚少,且不能运用理想的技术分离纯化出人类胃癌干细胞,因此分离纯化人类胃癌干细胞也就成为目前研究的热点和方向。目前为止,肿瘤干细胞的分离纯化主要运用下列方法:(1)肿瘤细胞表面的特异性标志物筛选肿瘤干细胞;(2)SP侧群法。近年来国内外学者仍不断寻找一些新的方法分离纯化胃癌干细胞。

3.1 胃癌干细胞表面特异性标志物 近年利用流式细胞分离法和免疫磁珠分离法的研究比较多,这两种方法主要利用肿瘤干细胞表面特异标记,

结合特异性抗体,将细胞分离出来^[49]。

利用上述方法,国内学者研究了干细胞表面标志物Oct4、Nanog和ABCG2在胃癌中的表达,研究结果显示胃癌组织中Oct4、Nanog和ABCG2的表达水平均显著高于癌旁组织。Oct4、Nanog和ABCG2在胃癌的发生、发展和转移中起作用,可作为胃癌新的分子标志物。CD133是一个被肯定的干(祖)细胞标志物,也是目前被鉴定的最重要的肿瘤干细胞标志,目前已明确CD133蛋白在胃癌中的表达谱,认为CD133可以作为胃癌干细胞表面标志物进行深入探讨^[50]。

Takaishi等^[21]研究认为在胃腺癌中只有表达CD44的细胞才具有肿瘤干细胞的特征,CD44是胃癌的癌干细胞标记分子。然而也有学者通过研究证实,虽然CD133/CD44在人类胃癌细胞中表达,但其既没有干细胞样特征,在动物异种移植实验中也并没有体现肿瘤启动细胞的特性,无法作为人类胃癌干细胞的表面标志物^[51]。对于胃癌干细胞特异性的标志物的寻找仍是研究热点,需进一步研究。

3.2 SP侧群法分离鉴定胃癌干细胞 由于缺乏胃癌干细胞表面特异性标记,因此对胃癌干细胞筛选研究较多的是侧群细胞筛选法,SP首次由Goodell等^[52]描述,认为某些癌细胞和干细胞可以将荧光染料Hoechst 33342排出细胞,表现为细胞核不着色或者着色程度很低,利用流式细胞仪可以将这些不着色细胞加以分离,人们将这种可以排出Hoechst 33342的细胞称为侧群(side population, SP)细胞^[53]。SP细胞能向不同类型和不同胚层的组织细胞分化,很可能代表了一群更原始的干细胞。目前研究已证明胃癌组织中存在SP细胞^[54]。但SP细胞代表干细胞学说面临挑战。Burkert^[55]等研究发现SP和非SP细胞集落形成率无差异,在体内的致癌能力无差异,多向分化潜能也无差异,体外培养发现SP能产生非SP细胞,而非SP细胞也能产生SP细胞,因此对于SP侧群法分离胃癌干细胞有待进一步研究。

3.3 大网膜乳斑对胃癌干细胞的筛选 根据肿瘤干细胞理论学说,肿瘤生长和转移是由一小群肿瘤干细胞所致^[56],并运用上述方法已在多种实体肿瘤中分离出肿瘤干细胞^[57]。对如何找到明确的能自身形成新的肿瘤的单一胃癌干细胞仍然是一个未知数。Cao等^[58]提出大网膜乳斑(Omental milky spots)为我们针对单一胃癌干细胞分离提供一个机会。

乳斑是存在于人和动物腹腔中的一种特殊的淋巴样组织, Tsujimoto等^[59]首先报道在腹膜上存在乳斑, 并强调集中在大网膜上, 其他依次为盆腔腹膜、肠系膜、后腹膜。值得注意的是, 大网膜乳斑是由大量巨噬细胞和淋巴细胞聚集而成, 参与腹腔颗粒、细菌和肿瘤细胞的清除^[60]。大量研究已经表明胃癌腹腔转移早期, 胃癌细胞主要选择性的渗透到大网膜乳斑上形成肿瘤启动细胞, 随后增殖分化形成微小转移灶^[59]。Oosterling等^[61]将胃肿瘤细胞注射入腹腔, 4 h后发现肿瘤细胞会优先黏附到网膜乳斑上, 这种快速而又有选择性的黏附机制, 是由受体和配体的结合实现的, Cui等^[62]研究发现乳斑, 间皮细胞表面以微绒毛为主的区域表达细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)和血管细胞黏附分子(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)的水平高于网膜其他区域, 而且间皮细胞孔上也有纤维连接蛋白的存在, 这也提高了大网膜的优先黏附作用。然而, 在注射72 h后, 大网膜乳斑区的肿瘤细胞出现了急剧下降, 但同时在其中发现了一团增殖的肿瘤细胞群, 并浸润形成了肿瘤微转移灶^[61]。

结合Oosterling的实验结果和之前的研究基础, 研究者提出, 由于大网膜乳斑巨噬细胞的杀伤作用, 所有成熟的肿瘤细胞和部分肿瘤干细胞已被清除, 而其他存活的肿瘤干细胞, 增殖分化为胃癌祖细胞并最终形成胃癌微小转移灶。

这表明大网膜乳斑成了一个“胃癌干细胞”的高效过滤器。收集这些微小转移灶中的肿瘤干细胞或祖细胞, 将其移植入NOD/SCID鼠以证明其致癌性^[58], 即可分离出肿瘤干细胞。

3.4 上皮间质转化与胃癌干细胞 上皮细胞脱黏附而转变成具迁移能力的间质细胞的现象称为上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[63], 其可促进癌症的转移, 使得上皮癌细胞失去上皮细胞表型转而获得间质细胞表型^[64]。已有大量研究证实具有播散、球形集落形成及侵袭能力的肿瘤干细胞中富含EMT^[65-68]。研究显示许多化疗药物, 例如阿霉素、5-氟尿嘧啶及顺铂等可诱导乳腺癌、胰腺癌细胞发生EMT^[69,70], 通过高通量(high-throughput)实验筛选出这些产生EMT的细胞, 体外可培养稳定细胞系^[71]。综合以上研究基础, 樊代明等^[72]通过长春新碱(VCR)短暂预处理的方法诱导胃癌细胞SGC-7901发生EMT而存活, 再经高通量实验分离出这些未被VCR杀死的胃癌细胞即胃癌干细胞候选细胞,

将其移植入NOD/SCID鼠体内, 证实其具有较高的致癌性, 成功分离出了胃癌干细胞样细胞(cancer stem-like cells, CSLCs), 为胃癌干细胞的分离纯化提供了新的思路。

4 结论

CSC是存在于肿瘤组织中的一小群细胞, 具有自我更新能力和转移潜能, 可以促进肿瘤增长。大量研究结果充分证实了CSC存在于多种实体肿瘤中。对胃癌干细胞起源的深入研究显示了BMDC作为胃癌干细胞起源的候选细胞的证据越来越多, 但仍未明确, 需进一步研究。目前的肿瘤治疗方法, 无论是化疗还是放疗, 都是靶向针对肿瘤组织中成熟的肿瘤细胞, 而不是肿瘤的起源—肿瘤干细胞, 这也解释了为什么常出现治疗失败。因此癌症唯一有效的治疗方法即靶向消除CSC, 研究探索一种有效分离鉴定纯化胃癌CSC的方法, 这将对胃癌的干细胞靶向治疗提供新策略。

5 参考文献

- 1 Takaishi S, Okumura T, Wang TC. Gastric cancer stem cells. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2876-2882
- 2 Houghton J, Morozov A, Smirnova I, Wang TC. Stem cells and cancer. *Semin Cancer Biol* 2007; 17: 191-203
- 3 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
- 4 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
- 5 Lobo NA, Shimono Y, Qian D, Clarke MF. The biology of cancer stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23: 675-699
- 6 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* 2003; 100: 3983-3988
- 7 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
- 8 Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005; 65: 10946-10951
- 9 Fang D, Nguyen TK, Leishear K, Finko R, Kulp AN, Hotz S, Van Belle PA, Xu X, Elder DE, Herlyn M. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res* 2005; 65: 9328-9337
- 10 Ma S, Chan KW, Hu L, Lee TK, Wo JY, Ng IO, Zheng BJ, Guan XY. Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells. *Gastroenterology* 2007; 132: 2542-2556

■同行评价

本文学术性较好, 对胃癌的靶向治疗及进一步研究具有重要的参考价值。

- 11 Hermann PC, Huber SL, Herrler T, Aicher A, Ellwart JW, Guba M, Bruns CJ, Heeschen C. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 313-323
- 12 Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1030-1037
- 13 O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007; 445: 106-110
- 14 Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, Biffoni M, Todaro M, Peschle C, De Maria R. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007; 445: 111-115
- 15 Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, Liu R, Wang X, Cho RW, Hoey T, Gurney A, Huang EH, Simeone DM, Shelton AA, Parmiani G, Castelli C, Clarke MF. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 10158-10163
- 16 Prince ME, Sivanandan R, Kaczorowski A, Wolf GT, Kaplan MJ, Dalerba P, Weissman IL, Clarke MF, Ailles LE. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 973-978
- 17 Matsui W, Huff CA, Wang Q, Malehorn MT, Barber J, Tanhehco Y, Smith BD, Civin CI, Jones RJ. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells. *Blood* 2004; 103: 2332-2336
- 18 Clues to pancreatic cancer stem cells. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 136-137
- 19 Clarke MF, Fuller M. Stem cells and cancer: two faces of eve. *Cell* 2006; 124: 1111-1115
- 20 Saikawa Y, Fukuda K, Takahashi T, Nakamura R, Takeuchi H, Kitagawa Y. Gastric carcinogenesis and the cancer stem cell hypothesis. *Gastric Cancer* 2010; 13: 11-24
- 21 Takaishi S, Okumura T, Tu S, Wang SS, Shibata W, Vigneshwaran R, Gordon SA, Shimada Y, Wang TC. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells* 2009; 27: 1006-1020
- 22 Fukuda K, Saikawa Y, Ohashi M, Kumagai K, Kitajima M, Okano H, Matsuzaki Y, Kitagawa Y. Tumor initiating potential of side population cells in human gastric cancer. *Int J Oncol* 2009; 34: 1201-1207
- 23 Vescovi AL, Galli R, Reynolds BA. Brain tumour stem cells. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 425-436
- 24 Yu F, Yao H, Zhu P, Zhang X, Pan Q, Gong C, Huang Y, Hu X, Su F, Lieberman J, Song E. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell* 2007; 131: 1109-1123
- 25 Dontu G, Jackson KW, McNicholas E, Kawamura MJ, Abdallah WM, Wicha MS. Role of Notch signaling in cell-fate determination of human mammary stem/progenitor cells. *Breast Cancer Res* 2004; 6: R605-R615
- 26 Phillips TM, McBride WH, Pajonk F. The response of CD24(-/low)/CD44+ breast cancer-initiating cells to radiation. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 1777-1785
- 27 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* 2006; 66: 6063-6071
- 28 Vargo-Gogola T, Rosen JM. Modelling breast cancer: one size does not fit all. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 659-672
- 29 Zhang C, Li C, He F, Cai Y, Yang H. Identification of CD44+CD24+ gastric cancer stem cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1679-1686
- 30 Trosko JE. From adult stem cells to cancer stem cells: Oct-4 Gene, cell-cell communication, and hormones during tumor promotion. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1089: 36-58
- 31 严宁, 张汉东, 宋娟, 董继华, 丁玉梅. 口腔鳞癌组织中转录因子Oct-4的表达及其与肿瘤干细胞相关性研究. *临床口腔医学杂志* 2006; 22: 664-667
- 32 Ezech UI, Turek PJ, Reijo RA, Clark AT. Human embryonic stem cell genes OCT4, NANOG, STELLAR, and GDF3 are expressed in both seminoma and breast carcinoma. *Cancer* 2005; 104: 2255-2265
- 33 Atlasi Y, Mowla SJ, Ziaee SA, Bahrami AR. OCT-4, an embryonic stem cell marker, is highly expressed in bladder cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1598-1602
- 34 Cheng CJ, Wu YC, Shu JA, Ling TY, Kuo HC, Wu JY, Chang EE, Chang SC, Huang YH. Aberrant expression and distribution of the OCT-4 transcription factor in seminomas. *J Biomed Sci* 2007; 14: 797-807
- 35 秦薇, 张晓伟, 章莉, 张凤春. Oct-4在胃癌组织中的表达及临床意义. *上海交通大学学报(医学版)* 2009; 29: 733-736
- 36 Karam SM, Straiton T, Hassan WM, Leblond CP. Defining epithelial cell progenitors in the human oxyntic mucosa. *Stem Cells* 2003; 21: 322-336
- 37 Karam SM, Li Q, Gordon JL. Gastric epithelial morphogenesis in normal and transgenic mice. *Am J Physiol* 1997; 272: G1209-G1220
- 38 Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. Stem cells find their niche. *Nature* 2001; 414: 98-104
- 39 Alison MR, Poulson R, Forbes S, Wright NA. An introduction to stem cells. *J Pathol* 2002; 197: 419-423
- 40 Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, Neutzel S, Sharkis SJ. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105: 369-377
- 41 Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, Ikeda Y, Hibi T, Inazawa J, Watanabe M. Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat Med* 2002; 8: 1011-1017
- 42 Avital I, Moreira AL, Klimstra DS, Leversha M, Papadopoulos EB, Brennan M, Downey RJ. Donor-derived human bone marrow cells contribute to solid organ cancers developing after bone marrow transplantation. *Stem Cells* 2007; 25: 2903-2909
- 43 Houghton J, Stoicov C, Nomura S, Rogers AB, Carlson J, Li H, Cai X, Fox JG, Goldenring JR, Wang TC. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science* 2004; 306: 1568-1571
- 44 Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, Lagasse E, Finegold M, Olson S, Grompe M. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003; 422: 897-901
- 45 Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature* 2003; 422: 901-904

- 46 Alvarez-Dolado M, Pardal R, Garcia-Verdugo JM, Fike JR, Lee HO, Pfeffer K, Lois C, Morrison SJ, Alvarez-Buylla A. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 2003; 425: 968-973
- 47 Camargo FD, Finegold M, Goodell MA. Hematopoietic myelomonocytic cells are the major source of hepatocyte fusion partners. *J Clin Invest* 2004; 113: 1266-1270
- 48 Rizvi AZ, Swain JR, Davies PS, Bailey AS, Decker AD, Willenbring H, Grompe M, Fleming WH, Wong MH. Bone marrow-derived cells fuse with normal and transformed intestinal stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 6321-6325
- 49 陈晶, 蔡荣, 钱程. 肿瘤干细胞起源及其生物学特性. *细胞生物学杂志* 2007; 29: 202-206
- 50 唐毕锋, 马立业, 翟羽佳, 余永伟, 张敏峰, 刘小康. 肿瘤干细胞标志物CD133在胃癌中的表达及其临床意义. *临床肿瘤学杂志* 2008; 13: 495-498
- 51 Rocco A, Liguori E, Pirozzi G, Tirino V, Compare D, Franco R, Tatangelo F, Palaia R, D'Armiento FP, Pollastrone G, Affuso A, Bottazzi EC, Masone S, Persico G, Nardone G. CD133 and CD44 Cell surface markers do not identify cancer stem cells in primary human gastric tumors. *J Cell Physiol* 2012; 227: 2686-2693
- 52 Goodell MA, Rosenzweig M, Kim H, Marks DF, DeMaria M, Paradis G, Grupp SA, Sieff CA, Mulligan RC, Johnson RP. Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species. *Nat Med* 1997; 3: 1337-1345
- 53 Zhou S, Morris JJ, Barnes Y, Lan L, Schuetz JD, Sorrentino BP. Bcrp1 gene expression is required for normal numbers of side population stem cells in mice, and confers relative protection to mitoxantrone in hematopoietic cells in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 12339-12344
- 54 Haraguchi N, Utsunomiya T, Inoue H, Tanaka F, Mimori K, Barnard GF, Mori M. Characterization of a side population of cancer cells from human gastrointestinal system. *Stem Cells* 2006; 24: 506-513
- 55 Burkert J, Otto WR, Wright NA. Side populations of gastrointestinal cancers are not enriched in stem cells. *J Pathol* 2008; 214: 564-573
- 56 Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105-111
- 57 Boman BM, Wicha MS. Cancer stem cells: a step toward the cure. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2795-2799
- 58 Cao L, Hu X, Zhang Y. Omental milky spots--highly efficient "natural filter" for screening gastric cancer stem cells. *Med Hypotheses* 2009; 73: 1017-1018
- 59 Tsujimoto H, Hagiwara A, Shimotsuma M, Sakakura C, Osaki K, Sasaki S, Ohyama T, Ohgaki M, Imanishi T, Yamazaki J, Takahashi T. Role of milky spots as selective implantation sites for malignant cells in peritoneal dissemination in mice. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122: 590-595
- 60 Berberich S, Dähne S, Schippers A, Peters T, Müller W, Kremmer E, Förster R, Pabst O. Differential molecular and anatomical basis for B cell migration into the peritoneal cavity and omental milky spots. *J Immunol* 2008; 180: 2196-2203
- 61 Oosterling SJ, van der Bij GJ, Bögels M, van der Sijp JR, Beelen RH, Meijer S, van Egmond M. Insufficient ability of omental milky spots to prevent peritoneal tumor outgrowth supports omentectomy in minimal residual disease. *Cancer Immunol Immunother* 2006; 55: 1043-1051
- 62 Cui L, Johkura K, Liang Y, Teng R, Ogiwara N, Okouchi Y, Asanuma K, Sasaki K. Biodefense function of omental milky spots through cell adhesion molecules and leukocyte proliferation. *Cell Tissue Res* 2002; 310: 321-330
- 63 Micalizzi DS, Farabaugh SM, Ford HL. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2010; 15: 117-134
- 64 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428
- 65 Ansieau S, Bastid J, Doreau A, Morel AP, Bouchet BP, Thomas C, Fauvet F, Puisieux I, Doglioni C, Piccinin S, Maestro R, Voeltzel T, Selmi A, Valsesia-Wittmann S, Caron de Fromental C, Puisieux A. Induction of EMT by twist proteins as a collateral effect of tumor-promoting inactivation of premature senescence. *Cancer Cell* 2008; 14: 79-89
- 66 Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Briskin C, Yang J, Weinberg RA. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133: 704-715
- 67 Morel AP, Lièvre M, Thomas C, Hinkal G, Ansieau S, Puisieux A. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 2008; 3: e2888
- 68 Gupta PB, Chaffer CL, Weinberg RA. Cancer stem cells: mirage or reality? *Nat Med* 2009; 15: 1010-1012
- 69 Arumugam T, Ramachandran V, Fournier KF, Wang H, Marquis L, Abbruzzese JL, Gallick GE, Logsdon CD, McConkey DJ, Choi W. Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 5820-5828
- 70 Li QQ, Xu JD, Wang WJ, Cao XX, Chen Q, Tang F, Chen ZQ, Liu XP, Xu ZD. Twist1-mediated adriamycin-induced epithelial-mesenchymal transition relates to multidrug resistance and invasive potential in breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2657-2665
- 71 Gupta PB, Onder TT, Jiang G, Tao K, Kuperwasser C, Weinberg RA, Lander ES. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. *Cell* 2009; 138: 645-659
- 72 Xue Z, Yan H, Li J, Liang S, Cai X, Chen X, Wu Q, Gao L, Wu K, Nie Y, Fan D. Identification of cancer stem cells in vincristine preconditioned SGC7901 gastric cancer cell line. *J Cell Biochem* 2012; 113: 302-312

编辑 李军亮 电编 何基才