

肝癌干细胞与肝细胞癌靶向治疗新策略

杨晓军

杨晓军, 甘肃省人民医院普外科 甘肃省兰州市 730000

杨晓军, 副主任医师, 医学博士, 主要从事肝胆肿瘤的基础与临床研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81260326.

作者贡献分布: 本文由杨晓军独立完成.

通讯作者: 杨晓军, 副主任医师, 730000, 甘肃省兰州市城关区东岗西路204号, 甘肃省人民医院普外科.
yangxjmd@aliyun.com
电话: 0931-8281011

收稿日期: 2016-04-18

修回日期: 2016-05-05

接受日期: 2016-05-09

在线出版日期: 2016-08-08

Liver cancer stem cells and new strategies for targeted therapy of hepatocellular carcinoma

Xiao-Jun Yang

Xiao-Jun Yang, Department of General Surgery, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260326.

Correspondence to: Xiao-Jun Yang, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Gansu Provincial Hospital, 204 Donggang West Road, Chengguan District, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. yangxjmd@aliyun.com

Received: 2016-04-18

Revised: 2016-05-05

Accepted: 2016-05-09

Published online: 2016-08-08

Abstract

Over the past ten years, increasing studies

show that liver cancer stem cells (LCSCs) are responsible not only for hepatocellular carcinoma (HCC) initiation and development but also for the generation of distant metastasis and relapse after therapy. Therefore, further research for LCSCs is considered a new avenue to explore the cause of HCC invasion and metastasis in order to formulate prevention and control strategies. Current traditional cancer therapies including chemotherapy and radiotherapy which primarily target rapidly dividing and most likely well differentiated tumor cells, would fail to eliminate LCSCs. After surgical removal of HCC mass, the remaining LCSCs still have the ability to differentiate, proliferate and even migrate to other places to form metastatic tumors. Therefore, to explore various kinds of targeted therapies for LCSCs is the only way to break through the "bottleneck" of HCC treatment. Strategies for targeted therapy of HCC include inhibiting LCSCs proliferation, inducing apoptosis and differentiation, increasing chemotherapy sensitivity and disrupting the tumor niche essential for CSC homeostasis.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver cancer stem cells; Hepatocellular carcinoma; Targeted therapy; Epithelial cell adhesion molecule

Yang XJ. Liver cancer stem cells and new strategies for targeted therapy of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(22): 3337-3346
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i22/3337.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i22.3337>

背景资料

大量研究表明在肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的发生、发展、复发及转移过程中, 具有CSC特征的肝癌干细胞 (liver cancer stem cells, LCSCs) 发挥着重要作用. 因此, 深入研究 LCSCs被认为是探索HCC侵袭转移原因, 制定防治策略的一条新思路.

同行评议者

郑建明, 教授, 主任医师, 第二军医大学附属长海医院病理科

■ 研发前沿

目前为止, 在包括HCC在内的各种恶性肿瘤中, 多种表面标志物被成功的用于CSCs的分离与富集. 这些标志物大部分最初源于造血干细胞的表面蛋白分子, 然而, 这些蛋白分子与CSCs功能之间的关系仍需进一步深入研究.

摘要

大量研究表明, 肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生、发展、复发及转移过程中发挥重要作用. 因此, 深入研究LCSCs被认为是探索HCC侵袭转移原因, 制定防治策略的一条新思路. 现有的临床治疗措施包括化疗、放疗虽然对普通HCC细胞具有杀伤作用, 但对LCSCs却不能发挥作用, 手术切除HCC肿块后LCSCs仍然可以分化、增殖甚至迁移到别处产生转移瘤. 因此, 针对LCSCs的各种靶向治疗的探索是突破HCC治疗瓶颈的必由之路. 针对LCSCs的生物学特性, 靶向LCSCs的HCC治疗策略包括: 抑制LCSCs增殖、诱导凋亡; 诱导LCSCs分化, 提高放化疗的敏感性; 破坏LCSCs赖以生存的微环境等.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝癌干细胞; 肝细胞癌; 靶向治疗; 上皮细胞黏附分子

核心提示: 肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生发展、复发转移密切相关, 针对LCSCs的各种靶向治疗的探索是突破HCC治疗瓶颈的必由之路. 然而, 从实验室到临床还存在许多具体困难, 包括进一步提高特异性、安全性, 联合应用多种靶向策略等.

杨晓军. 肝癌干细胞与肝细胞癌靶向治疗新策略. 世界华人消化杂志 2016; 24(22): 3337–3346 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i22/3337.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i22.3337>

0 引言

干细胞是一类具有无限增殖能力、自我更新能力和多向分化潜能的特殊细胞群体. 可分化为多种细胞系并进而形成组织和器官, 在组织器官损伤后的再生过程中发挥重要作用. 近年来, 在干细胞研究中, 一种新的干细胞类型-即肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)引起广泛关注, 成为生物医学领域的研究热点, 也为恶性肿瘤的研究提供了一个新的切入点. CSCs的研究成果及其所带来的新理念为恶性肿瘤的诊治开辟了一个新的方向.

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)

的总体发病率在恶性肿瘤中位居第5位, 在各种肿瘤致死原因中列第3位^[1]. 早期明确诊断手术切除是治疗HCC的首选方法之一, 但统计数据表明术后第1年复发率高达40%^[2]. 这种高复发率及转移是导致患者预后不良的主要原因. 已有大量研究^[3-5]表明在HCC的发生、发展、复发及转移过程中, 具有CSC特征的肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)发挥着重要作用. 因此, 深入研究LCSCs被认为是探索HCC侵袭转移原因, 制定防治策略的一条新思路.

1 肝脏干细胞

肝脏兼具外分泌与内分泌功能, 是人体最大的腺体, 功能复杂. 据估计正常肝脏大约1年左右完全更新一遍^[6], 所以正常成人肝脏的平均实时更新率大约为0.0025%-0.005%^[7]. 而啮齿类动物的肝脏在切除2/3后, 大约10 d就可以通过再生恢复至正常体积^[8,9]. 因此, 肝脏具有极强的再生能力, 克隆潜力非凡, 这也正是干细胞的一个重要属性.

研究认为肝干细胞(liver stem cells, LSCs)的来源包括肝内源性和肝外源性. 前者即肝前体细胞(hepatic progenitor cells, HPC), 主要来源于肝内未分化的卵圆细胞(oval cells, OVC), 数目较多但增殖潜能维持时间较短, 定位于终末胆小管及小叶间胆管旁^[10]. 外源性的肝干细胞来源于骨髓或者外周血的造血干细胞, 这部分细胞通常数目较少但增殖潜能维持时间较长^[11].

HCC作为常见的恶性肿瘤, 其细胞起源一直都存有争议: 一种观点认为由LSCs“成熟受阻”异常分化而来; 另一种观点认为由成熟肝细胞的去分化而来. 近年来, 随着对LSCs在HCC形成过程中重要性的深入认识, 越来越多实验证明LCSCs起源于LSCs的“成熟受阻”^[8,12,13]. 因为许多HCC都是包含成熟细胞和表型类似于HPC的混合物, 对HCC进一步的免疫学表型分析显示28%-50%都表达CK7和CK19等HPC表面标志物^[14]. 这些肿瘤中同时也包括有介于HPC和成熟肝细胞之间的中间型细胞.

2 LCSCs在HCC发病中的作用

早在40年前, Hamburger等^[15]就提出了提出肿瘤干细胞学说(tumor stem cells, TSCs). 该学说认为: 在肿瘤组织中仅有一小部分(<1.0%)的肿瘤细胞有致癌性, 这部分肿瘤细胞具有自我

更新、无限增殖、多分化潜能等与干细胞相似的特性,被称之为TSCs,肿瘤的形成和发展由TSCs主导.在此后的大量实验中已证实乳腺癌、胰腺癌、肺癌等多种肿瘤中均存在TSCs,也称为CSCs^[16,17].HCC是常见的恶性肿瘤之一,目前关于HCC发生的细胞学机制仍不十分明确.近年来,随着对HCC和LSCs研究的不断深入,已经证实HCC中也存在着LCSCs^[18].实际上,早在Lapidot等^[19]在裸鼠体内实验中证实CSCs与白血病的相关性之前, Sell等^[20]就已经发现HCC和胆管细胞癌的HPC起源,他们的研究指出,90%的HCC源于在慢性肝损伤和慢性肝纤维化中所激活的HPC,这些所谓的肿瘤起始干细胞(tumor initiating stem-like cells, TISC)具有四大特征:高效的自我更新能力;多向分化潜能(至少2个独立谱系,例如肝细胞、胆管细胞);对传统基因毒性药物的抗性以及形成原发肿瘤的独立能力.

LCSCs是近年来的研究热点,若能证实其在HCC发病中的作用,则将会对HCC的诊断和治疗产生重大的意义.HCC的实验动物模型提示无论成熟的肝细胞,还是LSCs或HPC都有可能引起肿瘤的发生^[21].同时这些实验模型也提示在不同的诱导情况下,HCC发生的细胞来源会发生变化.Gournay等^[22]的实验证实小鼠肝癌形成过程中成熟肝细胞可以去分化,因此说明增殖阶段的肝细胞可能是LCSCs的来源之一;Dumble等^[23]将培养出的卵圆细胞接种裸鼠皮下,发现裸鼠长出与HCC相似的肿瘤.检测肿瘤表面标志物,证明其由卵圆细胞分化而来,提示卵圆细胞可能参与HCC的发生;Ishikawa等^[24]将 β -半乳糖苷酶标记的雄鼠骨髓细胞移植到雌鼠体内后,在雌鼠的肝脏中发现雄鼠骨髓细胞来源的肝细胞,但他们接下来用化学致癌物诱导肝癌模型结果中发现由骨髓细胞分化来的LSCs恶性程度并不高.提示骨髓干细胞虽然可以分化成LSCs,但骨髓来源的LSCs可能并不是HCC恶性转移复发的根源.因此,LCSCs的来源包括增殖期肝细胞的去分化、OVC和循环的骨髓干细胞,其中循环的骨髓干细胞在HCC的复发、转移过程中具有重要作用.研究^[25]发现由于上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)使得LCSCs在循环系统中存活能力、远处转移能力和归巢能力都明显高于普通肿瘤细胞.成熟

肿瘤细胞在血循环中半衰期很短,大多数都自然凋亡,因此在肿瘤侵袭转移中相对作用较小.而具有EMT能力的LCSCs在HCC的转移、侵袭过程中发挥主导作用,是HCC复发的来源^[26].

3 LCSCs的鉴定、分离及功能检测

目前,有两种方法可以用来鉴定及分离CSCs,一是基于细胞的免疫原性,再一个就是利用其功能特性.免疫原性的检测主要是利用相应抗体检测各种特异性的CSCs表面标志物,而功能性检测主要是基于CSCs的一些特有的功能,如锚定非依赖生长、化疗耐药、自我更新、不对称分裂以及多分化潜能.考虑到CSCs的特性,我们很难用单一的细胞表面标志物或一种功能特性来鉴定CSCs.因此,联合应用表面标志物检测及功能分析是比较可靠的CSCs鉴定及分离方法.

3.1 LCSCs的表面标志物 目前为止,在包括HCC在内的各种恶性肿瘤中,多种表面标志物被成功的用于CSCs的分离与富集^[27].这些标志物大部分最初源于造血干细胞的表面蛋白分子,然而,这些蛋白分子与CSCs功能之间的关系仍需进一步深入研究.其中最常用于LCSCs分离的细胞表面标志物包括CD133、CD90以及EpCAM.

3.1.1 Prominin-1(CD133):近年来,在人及小鼠HCC所做的多项研究中,均采用造血干细胞表面标志物CD133来分离LCSCs^[28,29].在人的HCC细胞系中,CD133阳性细胞的比例大约是0%-65%之间.这些CD133阳性细胞在体外实验中显示出很强的克隆形成能力,在体内实验中具有形成肿瘤的特性.同时,这些细胞也展现出干细胞的其他特性,包括表达“干性”基因、自我更新能力、多向分化潜能和化疗耐药性^[30].在甲硫氨酸腺苷转移酶(methionine adenosyltransferase, MAT)缺陷所造的小鼠HCC模型中,也获得了类似的实验结果.尽管这些研究已经证实CD133作为细胞表面标志物可以用于LCSCs的体外分离鉴定,然而单一表面标志物的应用仍有很大的局限性^[31].

3.1.2 Thy-1(CD90):在人HCC细胞系中,间充质干细胞表面标志物CD90的阳性率约为0%-2.5%.Yang等^[32]的研究发现,所有检测的肿瘤样本以及大部分血样中都包含有具高度致瘤性的CD90⁺/CD45⁻细胞,而正常人及慢性

■ 相关报道

针对LCSCs的生物学特性,靶向LCSCs的HCC治疗策略包括:抑制LCSCs增殖、诱导凋亡;诱导LCSCs分化,提高化疗的敏感性;破坏LCSCs赖以生存的微环境等.此外,直接靶向LCSCs表面标志物,包括CD133、CD90以及EpCAM等也可以作为一个研究方向进行探索.

■ 创新盘点

本文从CSCs及LCSCs概念、LCSCs的鉴定、分离及功能检测、LCSCs的调控信号及HCC防治策略等多方面对近10年来的研究进展予以综述,提出了目前所存在的问题及进一步的研究方向。

肝炎患者样品中没有这种细胞。同样,当研究CD90在HCC细胞系中的表达时,作者发现只有CD90阳性细胞表现出致瘤特性。若CD90阳性细胞同时还表达另一种表面标志物-糖蛋白CD44,则会产生更强的侵袭表型,包括高转移性和自我更新能力。若用相应抗体阻断CD44,CD90阳性细胞的肿瘤形成能力及转移能力都会下降,并会产生凋亡现象。

3.1.3 上皮细胞黏附分子:近年来,越来越多的研究者把上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM/TACSTD1/ESA)作为一个特殊的CSCs表面标志物用于各种类型的肿瘤研究^[33-36]。在Yamashita等^[34,37]的研究中,将EpCAM应用于HCC患者的分类,并随后在两种HCC细胞系的肿瘤样本中验证了AFP和EpCAM的差异表达。从两种HCC细胞系中分离而来的EpCAM阳性细胞呈现出CSC样特性,与EpCAM阴性细胞相比,在体内实验中显示出较高的致瘤性,在体外非锚定培养中具有更强的成球能力。EpCAM阳性细胞的CSC特性在原发性肝癌样本中也得到了进一步证实。研究表明,激活Wnt/ β -catenin信号通路,可以增加EpCAM阳性细胞的比例,而阻断EpCAM可以引起细胞致瘤性的降低。尤为重要的一点是,在HCC肿瘤细胞系中所取得的CD90及EpCAM的研究结果,均在人HCC样本中得以再次证实。这些研究再一次为人HCC中LCSCs的存在提供了直接证据。

3.2 LCSCs的功能检测

3.2.1 侧群细胞分选(Hoechst-33342染色):另外,利用CSCs可高效外排DNA荧光染料Hoechst 33342的特性,可以采用流式细胞分选,这种细胞又被称为侧群细胞(side populations, SP)细胞。SP细胞分选法是1996年由Goodell等^[38]最早用于造血干细胞的分离鉴定,近年来已被广泛应用于干细胞和CSCs,包括LCSCs的分离筛选^[39-41]。这种方法是基于干细胞和CSCs富含ATP结合框(ATP-binding cassette, ABC)膜转运蛋白超家族,ABC膜转运蛋白能够逆浓度梯度通过耗能跨细胞膜将药物或某些底物转运出细胞,这正是CSCs产生化疗耐药性的主要原因^[38]。这种方法是用Hoechst 33342对细胞进行染色后再利用流式细胞仪进行分析,其中富含ABCG2膜转运蛋白的细胞能够迅速将染料泵出,因此很容易分选出来,这部分细胞就称之为SP细胞,所占比例大约是0%-28%^[39]。在HCC中,最先采用这一技术分离鉴定LCSCs的是Haraguchi等^[40],他们利用侧群细胞分选法在包括HCC在内的多种人胃肠道恶性肿瘤细胞系中成功分离鉴定了CSCs。SP细胞的特点是高表达一些与分化和化疗耐药相关的标志物,包括ABCG2膜转运蛋白和CAE-CAM6,而且具有进一步分化成SP细胞和非SP细胞的潜能。此后,Chiba等^[41]所完成的另一项研究再次证实了在HCC细胞系所分选的SP细胞中富含干细胞样细胞。同样,与“主群”细胞相比,这些SP细胞高表达干细胞表面标志物,在体外实验中具有较高的增殖活性和凋亡抵抗特性。在免疫缺陷动物体内实验中,仅1000个SP细胞接种就足以在裸鼠体内形成移植瘤,而 1×10^6 非SP细胞也不能在产生移植瘤。此外,SP细胞在一系列的移植实验中呈现出具有自我更新能力^[41],Chiba等^[42]此后的研究中进一步证实了PRC2复合物中的关键分子BMI在维持LCSCs自我更新能力方面的重要作用。同样,这些从HCC细胞系中分选出来的SP细胞也表现出高转移侵袭性以及对各种化疗药物的耐受性,类似于前面所提到的CD133阳性或CD90阳性的肿瘤细胞^[39,40]。

3.2.2 乙醛脱氢酶活性检测:同样也是源自分离造血干细胞/前体细胞的干细胞功能检测方法是采用流式细胞仪检测乙醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)活性^[40]。ALDH1是一种可以将醛类氧化为乙酸的胞质溶酶,在细胞的增殖、分化和存活过程中发挥重要作用。其在胚胎干细胞和成体干细胞中表达增高,对维持干细胞的“干性”起着重要作用。ALDH将ALDH底物BAAA(BODIPY[®]-氨基乙醛)转化成为带负电荷的产物BAA-(BODIPY[®]-氨基乙酸盐),该产物被保留在细胞中。因此,表达高水平ALDH的细胞呈现明亮的荧光(ALDHbr),可使用标准流式细胞仪进行鉴定和计数,或通过流式分选做进一步的纯化和鉴定^[43]。近年发现,ALDH1在CSCs中表达也升高,基于ALDH1活性的Aldefluor分析法已成功分选和鉴定包括HCC在内的多种CSCs^[44]。联合应用Aldefluor分析和CD133检测发现ALDH阳性细胞和CD133阳性细胞之间有相当大的重叠部分,但阴性细胞之间没有显著重叠^[43]。因此,这两种检测方法的联合应用可能有助于鉴定出更具“干性”的LCSCs。

为SP细胞,所占比例大约是0%-28%^[39]。在HCC中,最先采用这一技术分离鉴定LCSCs的是Haraguchi等^[40],他们利用侧群细胞分选法在包括HCC在内的多种人胃肠道恶性肿瘤细胞系中成功分离鉴定了CSCs。SP细胞的特点是高表达一些与分化和化疗耐药相关的标志物,包括ABCG2膜转运蛋白和CAE-CAM6,而且具有进一步分化成SP细胞和非SP细胞的潜能。此后,Chiba等^[41]所完成的另一项研究再次证实了在HCC细胞系所分选的SP细胞中富含干细胞样细胞。同样,与“主群”细胞相比,这些SP细胞高表达干细胞表面标志物,在体外实验中具有较高的增殖活性和凋亡抵抗特性。在免疫缺陷动物体内实验中,仅1000个SP细胞接种就足以在裸鼠体内形成移植瘤,而 1×10^6 非SP细胞也不能在产生移植瘤。此外,SP细胞在一系列的移植实验中呈现出具有自我更新能力^[41],Chiba等^[42]此后的研究中进一步证实了PRC2复合物中的关键分子BMI在维持LCSCs自我更新能力方面的重要作用。同样,这些从HCC细胞系中分选出来的SP细胞也表现出高转移侵袭性以及对各种化疗药物的耐受性,类似于前面所提到的CD133阳性或CD90阳性的肿瘤细胞^[39,40]。

3.2.3 成球能力检测: 由于干细胞具有锚定非依赖生长的特性, 因此, 在最初应用于分离鉴定神经干细胞之后^[45], 成球实验也越来越多的应用于CSCs的分选和功能鉴定. 大多数成球实验采用的是富含特定生长因子的无血清培养基, 有利于干细胞的增殖并形成克隆^[46]. 另一种办法是采用基质样的培养基(如Matrigel)来做三维立体培养研究. 成球实验在CSCs包括LCSCs的功能检测方面的研究已经证实: 与贴壁培养相比, 具有成球能力的肿瘤细胞表达较高比例的CSCs表面标志物, 包括CD133、SP细胞等^[47,48].

4 LCSCs的调控信号及HCC防治策略

近十几年来, 在基因组及蛋白质组学领域所取得的研究成果使我们对HCC发生发展的分子机制有了更深入的认识^[37,49-51]. 有趣的是, 许多研究证实的相关调控通路都与干细胞的“干性”维持、自我更新、多向分化潜能有关, 包括Wnt/ β -Catenin、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肝细胞生长因子受体、Hedgehog、MYC、p53、表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)等^[52]. 这些信号分子及通路在功能上相互重叠, 他们的功能异常与HCC的预后密切相关^[53-56]. 此外, 还有多项研究证实了HCC患者的临床过程与肿瘤细胞起源的密切关系^[50,57,58], 其中源于HPC的HCC预后最差^[37,57]. 越来越多的研究^[52,59]结果提示绝大部分在HCC中所发现的信号分子往往在分离出的LCSCs中也是活跃表达, 这恰恰解释了源于LCSCs的HCC的分子异质性. 因此, 深入研究上述的这些信号通路分子, 或许将发现新的HCC预后因子或特异性清除LCSCs的治疗靶点.

4.1 Wnt/ β -Catenin信号通路 Wnt信号在胚胎发育过程中的重要作用已经被深入研究, 细胞对Wnt信号的反应有一定的组织特异性和时间空间特异性, 涉及细胞存活、增殖并可以改变细胞命运. 遗传或后天因素所引起的Wnt信号异常与多种疾病相关, 在恶性肿瘤中也非常普遍, 尤其是结肠癌和HCC^[60,61]. 在HCC中, 大约有1/3的病例可以检测到Wnt信号异常, 有些是基因突变所致, 也有一些是非基因突变事件所致(与其他信号通路如TGF- β 的相互干扰). 这些结果进一步证实了Wnt信号在HCC发生发展过程中的重要作用^[62]. 实际上, Wnt信号的激活

已经在多种分离出的CSCs中得到了证实^[63,64]. 在HCC中, CD133阳性和EpCAM阳性的LCSCs中均检测到Wnt及其下游信号分子的表达升高^[28,34,37]. 此外, 从两种不同的HCC细胞系中所分离出的SP细胞基因表达谱检测也显示出Wnt信号通路的激活^[40,41]. 然而, 由于Wnt信号通路涉及细胞和机体的多种进化保守的功能调控, 要直接以他作为特异性的治疗靶点目前还存在许多问题^[60,65,66]. 尽管如此, 仍有一些研究呈现出了令人振奋的结果, 如基于RNA干扰技术敲除 β -catenin可以抑制肺癌干细胞的增殖、迁移、克隆形成, 并可以降低化疗耐药性^[64]. 而沉默Wnt信号通路下游靶点EpCAM在LCSCs中也取得了类似的结果^[34].

4.2 TGF- β 信号通路 TGF- β 家族成员在干细胞及恶性肿瘤的生理病理过程中起着重要作用, 因此已被广泛深入研究^[65,66]. 近年来的大量研究^[65-67]发现TGF- β 在多种不同恶性肿瘤中对于CSCs的干性维持发挥关键作用, 包括HCC. Tang等^[67]的研究显示, 如果LSCs丧失对TGF- β 信号通路的反应性, 就会导致LCSCs的产生, 而且, 在人HCC肿瘤样本中分离而来的CSCs也观察到存在TGF- β 信号通路的破坏. 这些结果也在从HCC细胞系中分离而来的EpCAM阳性的CSCs中再次得以证实^[34]. Lin等^[68]发表在*Oncogene*上的文章也报道了鼓舞人心的研究结果, 他们应用IL6/STAT3间接调控TGF- β 信号通路, 发现可以有效的根除HCC中CSCs. 当然, 这些结果还有待更多的基础及临床研究加以验证.

4.3 Notch信号通路 在物种进化上高度保守的Notch信号通路也涉及细胞的许多生理过程, 包括分化、细胞命运决定(如EMT)、增殖、凋亡和细胞黏附等^[69]. 在肝脏, Notch信号与胆管上皮细胞的分化, 形成等协同发育有关^[70]. 近年来, 在包括HCC在内的越来越多的恶性肿瘤发现了Notch信号的异常^[69,71]. Notch信号在CSCs包括LCSCs中的作用也在逐渐阐明^[28,72], 与CD133阴性的HCC细胞相比较, CD133阳性的HCC细胞中Notch信号通路中相关分子的表达增高. 目前, 通过抑制Notch信号通路来靶向治疗实体肿瘤的临床实验研究正在进行之中^[73]. 然而, Notch信号在HCC中的具体作用仍需深入研究.

4.4 Hedgehog信号通路 Hedgehog信号通路在

应用要点

近年来涌现出的大量研究已经证实了LCSCs靶向治疗探索的价值, 然而, 从实验室到临床还存在许多具体困难, 还有大量工作要做, 包括进一步提高特异性、安全性, 联合应用多种靶向策略等等.

■ 名词解释

干细胞: 一类具有无限增殖能力、自我更新能力和多向分化潜能等特殊细胞群体。

细胞以及干细胞的多种生理过程都发挥着重要作用。同样, 在人类的各种恶性肿瘤中都发现有Hedgehog信号通路的激活, 包括基底细胞癌、髓母细胞瘤、白血病、胃肠道、肺、卵巢、乳腺、前列腺以及肝胆系统的恶性肿瘤^[74]。在CD44阳性、CD24阳性和EpCAM阳性的胰腺CSCs中检测到Hedgehog信号通路的激活, 尤其是在肿瘤的侵袭前沿最为显著^[36,75]。此外, 在CD133阳性的LCSCs中也检测到有Hedgehog信号通路相关基因的高表达^[28]。因此, 开发特异性针对Hedgehog信号通路的抑制剂对于HCC的LCSCs靶向治疗也是个很好的选择。

4.5 MYC 原癌基因MYC涉及调控人体15%的基因, 各种刺激信号, 包括Wnt、Hedgehog和MAPK/ERK均可以激活MYC基因。MYC通过各种先天性和后天性机制对靶基因发挥调控作用, 包括DNA甲基化、染色体修饰等^[76], 对细胞的几乎所有生理过程都有广泛影响, 包括增殖、凋亡、分化, 也与干细胞多向分化潜能的维持有关^[77]。MYC基因的过表达和结构修饰在多种恶性肿瘤中频繁出现^[78]。最近的一些研究^[56,79]证实MYC基因在鼠类及人类的HCC发生中发挥关键作用, 尤其是在恶性转化过程中。在结肠癌细胞系的SP细胞中检测到了MYC基因的过表达^[80], 采用慢病毒转染shRNA靶向沉默MYC基因可以显著抑制结肠癌细胞增殖, 同时伴有细胞周期阻滞和细胞凋亡^[80]。关于MYC基因在LCSCs中的角色目前还有待进一步深入研究评估, 但是考虑到MYC基因具有致癌性和促凋亡的双重功能^[81], 若以其作为治疗靶点则必须谨慎行事。

4.6 微小RNA 近年来生物学研究证明许多非编码基因具有重要的调控功能, 尤其是广泛表达的微小RNA(mircoRNA, miRs)^[82]。miRs作为一类非编码核酸小分子, 长度约18-23个碱基, 2001-2002年引起学术界关注, 成为十余年来生命科学界的研究热点之一。研究^[82,83]证实miR通过转录后机制参与细胞多种生理过程和疾病的调控, 包括细胞增殖、凋亡、干细胞分化、多向潜能等。这种非编码小分子核酸的异常表达, 已经被证实在恶性肿瘤的发生、发展和转移过程中都发挥重要作用^[84]。在HCC的发生发展过程中, miR既有发挥肿瘤抑制作用的成员激活, 包括miR-122、miR-26、

miR-223, 也有发挥致癌作用的成员的激活, 如miR-221、miR-222, 最终是他们的合力决定了细胞的命运^[85-88]。近来研究^[88-90]已经证实, 某些miR具有调控LCSCs的重要作用, 因此, 应用miR直接靶向清除LCSCs已经成为可能。目前有一项研究^[91]致力于miR-181, 他可以直接靶向清除EpCAM阳性的LCSCs, 这是一个充满希望的研究发现。我们也期待着会有更多基于miR领域的研究来早日解决LCSCs的问题。

5 LCSCs在HCC靶向治疗中的重要性

现有的临床治疗措施包括化疗放疗虽然对普通肝癌细胞具有杀伤作用, 但对LCSCs却不能发挥作用, 外科手术切除HCC肿块后LCSCs仍然可以分化、增殖甚至迁移到别处产生转移瘤。因此, 针对LCSCs的各种靶向治疗的探索是突破HCC治疗瓶颈的必由之路。针对LCSCs的生物学特性, 靶向LCSCs的HCC治疗策略包括: 抑制LCSCs增殖、诱导凋亡; 诱导LCSCs分化, 提高放化疗的敏感性; 破坏LCSCs赖以生存的微环境等。此外, 直接靶向LCSCs表面标志物, 包括CD133、CD90以及EpCAM等也可以作为一个研究方向进行探索。尽管采用RNA干扰特异性靶向沉默EpCAM已经在HCC的细胞体外实验中取得显著成效, 包括减少LCSCs比例, 降低致瘤性和侵袭能力等^[34], 考虑到EpCAM同时也是Wnt/ β -catenin信号通路的下游靶点, 这项研究结果对于LCSCs靶向治疗的探索具有深远意义。然而, 正如我们前面多次提到的, 无论是LCSCs的表面标志物还是各种信号调控分子, 包括Wnt/ β -Catenin、TGF- β 、Hedgehog、Notch以及相关的MiRNA等, 都缺乏特异性, 他们在调控LCSCs的同时, 也参与LSCs的“干性”维持以及细胞其他多种生理过程的调控。因此, 在评估这些靶向治疗策略的有效性时, 一定要密切注意可能带来的不良反应, 如何在杀伤LCSCs的同时避免对LSCs的损伤, 是我们必须要解决的重要问题。

6 结论

近年来涌现出的大量研究已经证实了LCSCs靶向治疗探索的价值, 然而, 从实验室到临床还存在许多具体困难, 我们还有大量工作要做, 包括进一步提高特异性、安全性, 联合应用多

种靶向策略等等。

7 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Fan ST, Mau Lo C, Poon RT, Yeung C, Leung Liu C, Yuen WK, Ming Lam C, Ng KK, Ching Chan S. Continuous improvement of survival outcomes of resection of hepatocellular carcinoma: a 20-year experience. *Ann Surg* 2011; 253: 745-758 [PMID: 21475015 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3182111195]
- Hong SW, Hur W, Choi JE, Kim JH, Hwang D, Yoon SK. Role of ADAM17 in invasion and migration of CD133-expressing liver cancer stem cells after irradiation. *Oncotarget* 2016 Mar 16. [Epub ahead of print] [PMID: 26993601 DOI: 10.18632/oncotarget.8112]
- Hashimoto N, Tsunedomi R, Yoshimura K, Watanabe Y, Hazama S, Oka M. Cancer stem-like sphere cells induced from de-differentiated hepatocellular carcinoma-derived cell lines possess the resistance to anti-cancer drugs. *BMC Cancer* 2014; 14: 722 [PMID: 25260650 DOI: 10.1186/1471-2407-14-722]
- Bahnassy AA, Zekri AR, El-Bastawisy A, Fawzy A, Shetta M, Hussein N, Omran D, Ahmed AA, El-Labbody SS. Circulating tumor and cancer stem cells in hepatitis C virus-associated liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 18240-18248 [PMID: 25561791 DOI: 10.3748/wjg.v20.i48.18240]
- Steiner JW, Perz ZM, Taichman LB. Cell population dynamics in the liver. A review of quantitative morphological techniques applied to the study of physiological and pathological growth. *Exp Mol Pathol* 1966; 5: 146-181 [PMID: 5937381]
- Alison MR. Liver stem cells: implications for hepatocarcinogenesis. *Stem Cell Rev* 2005; 1: 253-260 [PMID: 17142862]
- Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66 [PMID: 9082986]
- Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology* 2004; 39: 1477-1487 [PMID: 15185286]
- Turner R, Lozoya O, Wang Y, Cardinale V, Gaudio E, Alpini G, Mendel G, Wauthier E, Barbier C, Alvaro D, Reid LM. Human hepatic stem cell and maturational liver lineage biology. *Hepatology* 2011; 53: 1035-1045 [PMID: 21374667 DOI: 10.1002/hep.24157]
- Navarro-Alvarez N, Soto-Gutierrez A, Kobayashi N. Hepatic stem cells and liver development. *Methods Mol Biol* 2010; 640: 181-236 [PMID: 20645053 DOI: 10.1007/978-1-60761-688-7_10]
- Shafritz DA, Oertel M, Menthena A, Nierhoff D, Dabeva MD. Liver stem cells and prospects for liver reconstitution by transplanted cells. *Hepatology* 2006; 43: S89-S98 [PMID: 16447292]
- Yao Z, Mishra L. Cancer stem cells and hepatocellular carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 1691-1698 [PMID: 19901516]
- Durnez A, Verslype C, Nevens F, Fevery J, Aerts R, Pirenne J, Lesaffre E, Libbrecht L, Desmet V, Roskams T. The clinicopathological and prognostic relevance of cytokeratin 7 and 19 expression in hepatocellular carcinoma. A possible progenitor cell origin. *Histopathology* 2006; 49: 138-151 [PMID: 16879391]
- Hamburger AW, Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science* 1977; 197: 461-463 [PMID: 560061]
- Todaro M, Francipane MG, Medema JP, Stassi G. Colon cancer stem cells: promise of targeted therapy. *Gastroenterology* 2010; 138: 2151-2162 [PMID: 20420952 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.063]
- Liu H, Patel MR, Prescher JA, Patsialou A, Qian D, Lin J, Wen S, Chang YF, Bachmann MH, Shimono Y, Dalerba P, Adorno M, Lobo N, Bueno J, Dirbas FM, Goswami S, Somlo G, Condeelis J, Contag CH, Gambhir SS, Clarke MF. Cancer stem cells from human breast tumors are involved in spontaneous metastases in orthotopic mouse models. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 18115-18120 [PMID: 20921380 DOI: 10.1073/pnas.1006732107]
- Chiba T, Kamiya A, Yokosuka O, Iwama A. Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma: Recent progress and perspective. *Cancer Lett* 2009; 286: 145-153 [PMID: 19464789 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.04.027]
- 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 [PMID: 7509044]
- Sell S, Dunsford HA. Evidence for the stem cell origin of hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *Am J Pathol* 1989; 134: 1347-1363 [PMID: 2474256]
- O'Connor ML, Xiang D, Shigdar S, Macdonald J, Li Y, Wang T, Pu C, Wang Z, Qiao L, Duan W. Cancer stem cells: A contentious hypothesis now moving forward. *Cancer Lett* 2014; 344: 180-187 [PMID: 24333726 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.11.012]
- Gournay J, Auvigne I, Pichard V, Ligeza C, Bralet MP, Ferry N. In vivo cell lineage analysis during chemical hepatocarcinogenesis in rats using retroviral-mediated gene transfer: evidence for dedifferentiation of mature hepatocytes. *Lab Invest* 2002; 82: 781-788 [PMID: 12065689]
- Dumble ML, Croager EJ, Yeoh GC, Quail EA. Generation and characterization of p53 null transformed hepatic progenitor cells: oval cells give rise to hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2002; 23: 435-445 [PMID: 11895858]
- Ishikawa H, Nakao K, Matsumoto K, Nishimura D, Ichikawa T, Hamasaki K, Eguchi K. Bone marrow engraftment in a rodent model of chemical carcinogenesis but no role in the histogenesis of hepatocellular carcinoma. *Gut* 2004; 53: 884-889 [PMID: 15138218]
- 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 [PMID: 18485877 DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.027]

同行评价

本综述内容新颖、全面、论文语句通畅、用语规范，论点明确，这对于肝细胞癌的研究具有较大的参考价值。

- 26 Fan ST, Yang ZF, Ho DW, Ng MN, Yu WC, Wong J. Prediction of posthepatectomy recurrence of hepatocellular carcinoma by circulating cancer stem cells: a prospective study. *Ann Surg* 2011; 254: 569-576 [PMID: 21892074 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3182300a1d]
- 27 Park CY, Tseng D, Weissman IL. Cancer stem cell-directed therapies: recent data from the laboratory and clinic. *Mol Ther* 2009; 17: 219-230 [PMID: 19066601 DOI: 10.1038/mt.2008.254]
- 28 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 [PMID: 17570225]
- 29 Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, Motohashi T, Kunisada T, Moriwaki H. Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351: 820-824 [PMID: 17097610]
- 30 Ma S, Lee TK, Zheng BJ, Chan KW, Guan XY. CD133+ HCC cancer stem cells confer chemoresistance by preferential expression of the Akt/PKB survival pathway. *Oncogene* 2008; 27: 1749-1758 [PMID: 17891174]
- 31 Rountree CB, Ding W, He L, Stiles B. Expansion of CD133-expressing liver cancer stem cells in liver-specific phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10-deleted mice. *Stem Cells* 2009; 27: 290-299 [PMID: 19008348 DOI: 10.1634/stemcells.2008-0332]
- 32 Yang ZF, Ngai P, Ho DW, Yu WC, Ng MN, Lau CK, Li ML, Tam KH, Lam CT, Poon RT, Fan ST. Identification of local and circulating cancer stem cells in human liver cancer. *Hepatology* 2008; 47: 919-928 [PMID: 18275073 DOI: 10.1002/hep.22082]
- 33 Munz M, Baeuerle PA, Gires O. The emerging role of EpCAM in cancer and stem cell signaling. *Cancer Res* 2009; 69: 5627-5629 [PMID: 19584271 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0654]
- 34 Yamashita T, Ji J, Budhu A, Forgues M, Yang W, Wang HY, Jia H, Ye Q, Qin LX, Wauthier E, Reid LM, Minato H, Honda M, Kaneko S, Tang ZY, Wang XW. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features. *Gastroenterology* 2009; 136: 1012-1024 [PMID: 19150350 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.004]
- 35 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 [PMID: 17122771]
- 36 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 [PMID: 17283135]
- 37 Yamashita T, Forgues M, Wang W, Kim JW, Ye Q, Jia H, Budhu A, Zanetti KA, Chen Y, Qin LX, Tang ZY, Wang XW. EpCAM and alpha-fetoprotein expression defines novel prognostic subtypes of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 1451-1461 [PMID: 18316609 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6013]
- 38 Goodell MA, Brose K, Paradis G, Conner AS, Mulligan RC. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med* 1996; 183: 1797-1806 [PMID: 8666936]
- 39 Shi GM, Xu Y, Fan J, Zhou J, Yang XR, Qiu SJ, Liao Y, Wu WZ, Ji Y, Ke AW, Ding ZB, He YZ, Wu B, Yang GH, Qin WZ, Zhang W, Zhu J, Min ZH, Wu ZQ. Identification of side population cells in human hepatocellular carcinoma cell lines with stepwise metastatic potentials. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 1155-1163 [PMID: 18470535 DOI: 10.1007/s00432-008-0407-1]
- 40 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 [PMID: 16239320]
- 41 Chiba T, Kita K, Zheng YW, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, Nakauchi H, Taniguchi H. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. *Hepatology* 2006; 44: 240-251 [PMID: 16799977]
- 42 Chiba T, Miyagi S, Saraya A, Aoki R, Seki A, Morita Y, Yonemitsu Y, Yokosuka O, Taniguchi H, Nakauchi H, Iwama A. The polycomb gene product BMI1 contributes to the maintenance of tumor-initiating side population cells in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 7742-7749 [PMID: 18829528 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5882]
- 43 Ma S, Chan KW, Lee TK, Tang KH, Wo JY, Zheng BJ, Guan XY. Aldehyde dehydrogenase discriminates the CD133 liver cancer stem cell populations. *Mol Cancer Res* 2008; 6: 1146-1153 [PMID: 18644979 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-08-0035]
- 44 Deng S, Yang X, Lassus H, Liang S, Kaur S, Ye Q, Li C, Wang LP, Roby KF, Orsulic S, Connolly DC, Zhang Y, Montone K, Bützow R, Coukos G, Zhang L. Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS One* 2010; 5: e10277 [PMID: 20422001 DOI: 10.1371/journal.pone.0010277]
- 45 Gilbert CA, Ross AH. Cancer stem cells: cell culture, markers, and targets for new therapies. *J Cell Biochem* 2009; 108: 1031-1038 [PMID: 19760641 DOI: 10.1002/jcb.22350]
- 46 Fujii H, Honoki K, Tsujiuchi T, Kido A, Yoshitani K, Takakura Y. Sphere-forming stem-like cell populations with drug resistance in human sarcoma cell lines. *Int J Oncol* 2009; 34: 1381-1386 [PMID: 19360350]
- 47 Pece S, Tosoni D, Confalonieri S, Mazzarol G, Vecchi M, Ronzoni S, Bernard L, Viale G, Pelicci PG, Di Fiore PP. Biological and molecular heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content. *Cell* 2010; 140: 62-73 [PMID: 20074520 DOI: 10.1016/j.cell.2009.12.007]
- 48 Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 755-768 [PMID: 18784658 DOI: 10.1038/nrc2499]
- 49 Iizuka N, Oka M, Yamada-Okabe H, Nishida M, Maeda Y, Mori N, Takao T, Tamesa T, Tangoku A, Tabuchi H, Hamada K, Nakayama H, Ishitsuka H, Miyamoto T, Hirabayashi A, Uchimura S,

- Hamamoto Y. Oligonucleotide microarray for prediction of early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Lancet* 2003; 361: 923-929 [PMID: 12648972]
- 50 Lee JS, Chu IS, Heo J, Calvisi DF, Sun Z, Roskams T, Durnez A, Demetris AJ, Thorgeirsson SS. Classification and prediction of survival in hepatocellular carcinoma by gene expression profiling. *Hepatology* 2004; 40: 667-676 [PMID: 15349906]
- 51 Ye QH, Qin LX, Forgues M, He P, Kim JW, Peng AC, Simon R, Li Y, Robles AI, Chen Y, Ma ZC, Wu ZQ, Ye SL, Liu YK, Tang ZY, Wang XW. Predicting hepatitis B virus-positive metastatic hepatocellular carcinomas using gene expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2003; 9: 416-423 [PMID: 12640447]
- 52 Marquardt JU, Thorgeirsson SS. Stem cells in hepatocarcinogenesis: evidence from genomic data. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 26-34 [PMID: 20175031 DOI: 10.1055/s-0030-1247130]
- 53 Duncan AW, Dorrell C, Grompe M. Stem cells and liver regeneration. *Gastroenterology* 2009; 137: 466-481 [PMID: 19470389 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.05.044.]
- 54 Yang W, Yan HX, Chen L, Liu Q, He YQ, Yu LX, Zhang SH, Huang DD, Tang L, Kong XN, Chen C, Liu SQ, Wu MC, Wang HY. Wnt/beta-catenin signaling contributes to activation of normal and tumorigenic liver progenitor cells. *Cancer Res* 2008; 68: 4287-4295 [PMID: 18519688 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6691]
- 55 Hoshida Y, Nijman SM, Kobayashi M, Chan JA, Brunet JP, Chiang DY, Villanueva A, Newell P, Ikeda K, Hashimoto M, Watanabe G, Gabriel S, Friedman SL, Kumada H, Llovet JM, Golub TR. Integrative transcriptome analysis reveals common molecular subclasses of human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2009; 69: 7385-7392 [PMID: 19723656 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1089]
- 56 Shachaf CM, Kopelman AM, Arvanitis C, Karlsson A, Beer S, Mandl S, Bachmann MH, Borowsky AD, Ruebner B, Cardiff RD, Yang Q, Bishop JM, Contag CH, Felsner DW. MYC inactivation uncovers pluripotent differentiation and tumour dormancy in hepatocellular cancer. *Nature* 2004; 431: 1112-1117 [PMID: 15475948]
- 57 Lee JS, Heo J, Libbrecht L, Chu IS, Kaposi-Novak P, Calvisi DF, Mikaelyan A, Roberts LR, Demetris AJ, Sun Z, Nevens F, Roskams T, Thorgeirsson SS. A novel prognostic subtype of human hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells. *Nat Med* 2006; 12: 410-416 [PMID: 16532004]
- 58 Lee JS, Thorgeirsson SS. Comparative and integrative functional genomics of HCC. *Oncogene* 2006; 25: 3801-3809 [PMID: 16799621]
- 59 Mishra L, Banker T, Murray J, Byers S, Thenappan A, He AR, Shetty K, Johnson L, Reddy EP. Liver stem cells and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 318-329 [PMID: 19111019 DOI: 10.1002/hep.22704.]
- 60 Moon RT, Kohn AD, De Ferrari GV, Kaykas A. Wnt and beta-catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 691-701 [PMID: 15372092]
- 61 Zaret KS. Genetic programming of liver and pancreas progenitors: lessons for stem-cell differentiation. *Nat Rev Genet* 2008; 9: 329-340 [PMID: 18398419 DOI: 10.1038/nrg2318]
- 62 Boyault S, Rickman DS, de Reyniès A, Balabaud C, Rebouissou S, Jeannot E, Hérault A, Saric J, Belghiti J, Franco D, Bioulac-Sage P, Laurent-Puig P, Zucman-Rossi J. Transcriptome classification of HCC is related to gene alterations and to new therapeutic targets. *Hepatology* 2007; 45: 42-52 [PMID: 17187432]
- 63 Espada J, Calvo MB, Díaz-Prado S, Medina V. Wnt signalling and cancer stem cells. *Clin Transl Oncol* 2009; 11: 411-427 [PMID: 19574199]
- 64 Teng Y, Wang X, Wang Y, Ma D. Wnt/beta-catenin signaling regulates cancer stem cells in lung cancer A549 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 392: 373-379 [PMID: 20074550 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.01.028]
- 65 Mishra L, Derynck R, Mishra B. Transforming growth factor-beta signaling in stem cells and cancer. *Science* 2005; 310: 68-71 [PMID: 16210527]
- 66 Coulouarn C, Factor VM, Thorgeirsson SS. Transforming growth factor-beta gene expression signature in mouse hepatocytes predicts clinical outcome in human cancer. *Hepatology* 2008; 47: 2059-2067 [PMID: 18506891 DOI: 10.1002/hep.22283]
- 67 Tang Y, Kitisin K, Jogunoori W, Li C, Deng CX, Mueller SC, Ransom HW, Rashid A, He AR, Mendelson JS, Jessup JM, Shetty K, Zaslloff M, Mishra B, Reddy EP, Johnson L, Mishra L. Progenitor/stem cells give rise to liver cancer due to aberrant TGF-beta and IL-6 signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 2445-2450 [PMID: 18263735 DOI: 10.1073/pnas.0705395105]
- 68 Lin L, Amin R, Gallicano GI, Glasgow E, Jogunoori W, Jessup JM, Zaslloff M, Marshall JL, Shetty K, Johnson L, Mishra L, He AR. The STAT3 inhibitor NSC 74859 is effective in hepatocellular cancers with disrupted TGF-beta signaling. *Oncogene* 2009; 28: 961-972 [PMID: 19137011 DOI: 10.1038/onc.2008.448]
- 69 Bolós V, Grego-Bessa J, de la Pompa JL. Notch signaling in development and cancer. *Endocr Rev* 2007; 28: 339-363 [PMID: 17409286]
- 70 Zong Y, Panikkar A, Xu J, Antoniou A, Raynaud P, Lemaigre F, Stanger BZ. Notch signaling controls liver development by regulating biliary differentiation. *Development* 2009; 136: 1727-1739 [PMID: 19369401 DOI: 10.1242/dev.029140]
- 71 Gao J, Song Z, Chen Y, Xia L, Wang J, Fan R, Du R, Zhang F, Hong L, Song J, Zou X, Xu H, Zheng G, Liu J, Fan D. Deregulated expression of Notch receptors in human hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 114-121 [PMID: 17920003]
- 72 Bolós V, Blanco M, Medina V, Aparicio G, Díaz-Prado S, Grande E. Notch signalling in cancer stem cells. *Clin Transl Oncol* 2009; 11: 11-19 [PMID: 19155199]
- 73 Miele L, Miao H, Nickoloff BJ. NOTCH signaling as a novel cancer therapeutic target. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6: 313-323 [PMID: 16848722]
- 74 Yang L, Xie G, Fan Q, Xie J. Activation of the hedgehog-signaling pathway in human cancer and the clinical implications. *Oncogene* 2010; 29: 469-481 [PMID: 19935712 DOI: 10.1038/

- onc.2009.392]
- 75 Quint K, Stintzing S, Alinger B, Hauser-Kronberger C, Dietze O, Gahr S, Hahn EG, Ocker M, Neureiter D. The expression pattern of PDX-1, SHH, Patched and Gli-1 is associated with pathological and clinical features in human pancreatic cancer. *Pancreatology* 2009; 9: 116-126 [PMID: 19077462 DOI: 10.1159/000178882]
- 76 Gearhart J, Pashos EE, Prasad MK. Pluripotency redux--advances in stem-cell research. *N Engl J Med* 2007; 357: 1469-1472 [PMID: 17928593]
- 77 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-676 [PMID: 16904174]
- 78 Soucek L, Whitfield J, Martins CP, Finch AJ, Murphy DJ, Sodir NM, Karnezis AN, Swigart LB, Nasi S, Evan GI. Modelling Myc inhibition as a cancer therapy. *Nature* 2008; 455: 679-683 [PMID: 18716624 DOI: 10.1038/nature07260.]
- 79 Kaposi-Novak P, Libbrecht L, Woo HG, Lee YH, Sears NC, Coulouarn C, Conner EA, Factor VM, Roskams T, Thorgeirsson SS. Central role of c-Myc during malignant conversion in human hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 2009; 69: 2775-2782 [PMID: 19276364 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3357]
- 80 Wang J, Wang H, Li Z, Wu Q, Lathia JD, McLendon RE, Hjelmeland AB, Rich JN. c-Myc is required for maintenance of glioma cancer stem cells. *PLoS One* 2008; 3: e3769 [PMID: 19020659 DOI: 10.1371/journal.pone.0003769.]
- 81 Murphy DJ, Junttila MR, Pouyet L, Karnezis A, Shchors K, Bui DA, Brown-Swigart L, Johnson L, Evan GI. Distinct thresholds govern Myc's biological output in vivo. *Cancer Cell* 2008; 14: 447-457 [PMID: 19061836 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.10.018.]
- 82 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438]
- 83 Liu C, Tang DG. MicroRNA regulation of cancer stem cells. *Cancer Res* 2011; 71: 5950-5954 [PMID: 21917736 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 84 Ventura A, Jacks T. MicroRNAs and cancer: short RNAs go a long way. *Cell* 2009; 136: 586-591 [PMID: 19239879 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.005]
- 85 Ji J, Shi J, Budhu A, Yu Z, Forgues M, Roessler S, Ambros S, Chen Y, Meltzer PS, Croce CM, Qin LX, Man K, Lo CM, Lee J, Ng IO, Fan J, Tang ZY, Sun HC, Wang XW. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 1437-1447 [PMID: 19812400 DOI: 10.1056/NEJMoa0901282]
- 86 Pineau P, Volinia S, McJunkin K, Marchio A, Battiston C, Terris B, Mazzaferro V, Lowe SW, Croce CM, Dejean A. miR-221 overexpression contributes to liver tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 264-269 [PMID: 20018759 DOI: 10.1073/pnas.0907904107]
- 87 Wong QW, Lung RW, Law PT, Lai PB, Chan KY, To KF, Wong N. MicroRNA-223 is commonly repressed in hepatocellular carcinoma and potentiates expression of Stathmin1. *Gastroenterology* 2008; 135: 257-269 [PMID: 18555017 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.04.003]
- 88 Wong QW, Ching AK, Chan AW, Choy KW, To KF, Lai PB, Wong N. MiR-222 overexpression confers cell migratory advantages in hepatocellular carcinoma through enhancing AKT signaling. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 867-875 [PMID: 20103675 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1840]
- 89 Shimono Y, Zabala M, Cho RW, Lobo N, Dalerba P, Qian D, Diehn M, Liu H, Panula SP, Chiao E, Dirbas FM, Somlo G, Pera RA, Lao K, Clarke MF. Downregulation of miRNA-200c links breast cancer stem cells with normal stem cells. *Cell* 2009; 138: 592-603 [PMID: 19665978 DOI: 10.1016/j.cell.2009.07.011]
- 90 Peter ME. Regulating cancer stem cells the miR way. *Cell Stem Cell* 2010; 6: 4-6 [PMID: 20085735 DOI: 10.1016/j.stem.2009.12.006.]
- 91 Ji J, Yamashita T, Budhu A, Forgues M, Jia HL, Li C, Deng C, Wauthier E, Reid LM, Ye QH, Qin LX, Yang W, Wang HY, Tang ZY, Croce CM, Wang XW. Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells. *Hepatology* 2009; 50: 472-480 [PMID: 19585654 DOI: 10.1002/hep.22989]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

