

## 结直肠癌干细胞的研究进展

彭珊, 胡国清

彭珊, 胡国清, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科 湖北省武汉市 430030

胡国清, 教授, 主要从事鼻咽癌、乳腺癌、胃肠道肿瘤等肿瘤放射治疗及分子靶向治疗研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81272491.

作者贡献分布: 本文由彭珊综述与论文写作; 胡国清修改并审校。

通讯作者: 胡国清, 教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科。  
gqhu@tjh.tjmu.edu.cn

收稿日期: 2016-04-27

修回日期: 2016-05-20

接受日期: 2016-05-31

在线出版日期: 2016-10-08

### Colorectal cancer stem cells

Shan Peng, Guo-Qing Hu

Shan Peng, Guo-Qing Hu, Department of Oncology, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81272491.

Correspondence to: Guo-Qing Hu, Professor, Department of Oncology, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. gqhu@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2016-04-27

Revised: 2016-05-20

Accepted: 2016-05-31

Published online: 2016-10-08

### Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the most

common malignant tumors of the digestive system, and its initiation, promotion and prognosis are closely related to cancer stem cells (CSCs). CSCs are defined as a minority population of cancer cells with self-renewal ability, multi-lineage differentiation potential and highly aggressive behaviors, which have been identified in many types of cancers including CRC as one of the key mediators driving cancer metastasis and progression. The presence of these CSCs can be attributed to the failure of cancer treatments as these cells are believed to exhibit therapy resistance. Here, we review the current understanding of colorectal CSCs, with an emphasis on candidate markers, biological properties, related signaling pathways, and clinical applications.

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

Key Words: Colorectal cancer; Colorectal cancer stem cells; Cancer stem cell markers; Biological properties; Signaling pathway; Tumor metastasis; Targeted therapy

Peng S, Hu GQ. Colorectal cancer stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(28): 3953-3962 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i28/3953.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i28.3953>

### 摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 其发生、发展及预后与肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)有着密切联系。CSCs是肿瘤中极小一部分具有无限自我更新、多向分化潜能和高度恶性的

### 背景资料

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 根据流行病学数据显示, 发达国家CRC致死率排名第三。目前全球CRC 5年生存率为66%, 但晚期患者的5年生存率仅为13%。

### 同行评议者

高林波, 副研究员, 四川大学华西第二医院; 齐晓薇, 副主任医师, 江南大学附属医院(无锡市第四人民医院)病理科

# 研究前沿

肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)研究的关键是如何通过特异性CSCs标志物从肿瘤组织或肿瘤细胞中分离出CSCs. 表达CSCs表面分子标记的细胞比例可能随肿瘤分期(因为在早期肿瘤中有非常明确的分层结构,但是在晚期肿瘤中这种结构已被破坏)、治疗时间、治疗方式、微环境因素和个体因素的变化而变化.

肿瘤细胞亚群, 其已被证实存在于包括结肠癌在内的多种类型肿瘤中. CSCs赋予肿瘤转移、化学耐药和对微环境的持续适应能力. 本文基于近年来国内外发表的CRC干细胞相关论文, 就其表面标志物、生物学特性、信号通路及临床意义等方面进行综述.

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

关键词: 结直肠癌; 结直肠癌干细胞; 肿瘤干细胞表面标志物; 生物学特性; 信号通路; 肿瘤转移; 靶向治疗

核心提要: 本文基于近年来国内外发表的结直肠癌干细胞的相关论文, 就其表面标志物、生物学特性、信号通路及临床意义等方面进行综述.

彭珊, 胡国清. 结直肠癌干细胞的研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(28): 3953-3962 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i28/3953.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i28.3953>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 根据流行病学数据显示, 发达国家CRC致死率排名第三. 尽管CRC在发达国家的发病率正在逐年下降, 但是在中国在的发展中国家中, 其发病率呈逐年上升的趋势. 目前全球CRC 5年生存率为66%, 但晚期患者的5年生存率仅为13%<sup>[1]</sup>. 自从20多年前发现基因修饰和腺癌的发生发展相关以来<sup>[2]</sup>, 基因组学和表观遗传学以及转基因小鼠模型等实验方法让我们更加深入地了解CRC的本质. 一方面, 肿瘤与肿瘤之间存在异质性, 使得肿瘤的标准化治疗向个体化治疗的方向转变<sup>[3]</sup>; 另一方面, 肿瘤内存在异质性, 即一种结肠癌内含有不同基因突变的多个克隆子<sup>[4]</sup>. 而肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)的发现进一步证实了肿瘤内异质性, 因为他们最开始被认为是一类有明确表型和分子特征的细胞亚群. 越来越多的证据<sup>[5]</sup>表明, CSCs是一类动态变化的细胞亚群, 同时受基因组学、表观遗传学及微环境因素的综合作用的影响. 最近研究<sup>[6]</sup>发现肿瘤间异质性和肿瘤内异质性都对肿瘤患者的预后具有临床指导意义. CSCs是一类具有自我更新、无限增殖及分化潜能的细胞亚群, 这部分细胞虽然只占肿瘤的极少部分, 却是肿瘤发

生、发展的关键<sup>[7]</sup>. 1997年, Bonnet等<sup>[8]</sup>第一次通过CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>标记分离出白血病干细胞, 并且发现CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>白血病细胞能在小鼠体内诱发人急性髓性白血病. 研究者们后续在乳腺癌<sup>[9]</sup>、脑胶质瘤<sup>[10]</sup>、肺腺癌<sup>[11]</sup>、前列腺癌<sup>[12]</sup>、黑色素瘤<sup>[13]</sup>、头颈部肿瘤<sup>[14]</sup>、CRC<sup>[15]</sup>等很多实体瘤中发现CSCs的存在. 基于近年来CRC干细胞的相关研究, 本文将集中阐述CRC干细胞的起源、表型、功能、相关信号通路及其临床意义等. 深入了解CSCs的生物学特性、研究发展相应的鉴别方法以及开发靶向CSCs的治疗手段, 将对肿瘤研究与临床治疗有着极其重要的指导意义.

## 1 正常肠道干细胞与肠道稳态

即使CRC干细胞不一定来源于正常的肠道干细胞(intestinal stem cells, ISCs), 两者之间仍有一些共通的基本信号通路<sup>[16]</sup>, 所以了解ISCs有助于了解CRC干细胞. ISCs是成体干细胞的一种, 具有不对称分裂、自我更新和多向分化潜能<sup>[17]</sup>. ISCs主要存在于肠隐窝内, 其不断增殖、分化、迁移来补充肠道上皮细胞, 使其每5 d更新1次, 致使肠道上皮组织是成年哺乳动物自我更新最活跃的组织之一<sup>[18]</sup>. ISCs根据其标记分子可分为+4细胞(广泛表达BMI1、HOPX、TERT和LRIG1)<sup>[19]</sup>和憩室柱状细胞(高表达LGR5)<sup>[20]</sup>两类. 有学者认为这是两种截然不同的细胞亚群<sup>[21]</sup>, 但是也有研究<sup>[22,23]</sup>表明这两种亚群之间存在相互转换. 相比于小肠, 结肠在憩室结构和细胞组成上有许多不同, 结肠的憩室在黏膜表面不会突出形成绒毛, 而且憩室内没有Paneth细胞、+4细胞和BMI1<sup>+</sup>细胞, 结肠干细胞通常是LGR5<sup>+</sup>或EphB2<sup>high</sup><sup>[24]</sup>. 此外, 在结肠憩室中还检测到慢循环干细胞, 其以上调的Notch信号通路、LRIG1<sup>+</sup>或作为DCLK<sup>+</sup>簇细胞亚群为特征<sup>[25-27]</sup>.

## 2 CRC的起源与CRC干细胞

1998年Lengauer等<sup>[28]</sup>首先提出了CRC发生的分子生物学模型, 认为生长调节基因抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)、K-ras和p53按一定顺序发生突变可以引起相应的蛋白表达异常, 而这种异常表达的不断累积导致正常上皮-管状腺瘤-管状绒毛状腺瘤-重度不典型增生-肿瘤这一癌变过程, 即是这种基因的不稳定性导致了原癌基因的激活突变和抑癌基

因的失活突变, 最终引起肿瘤的发生. 然而, 有关肿瘤起始细胞(即最开始发生原癌基因激活或抑癌基因失活的细胞类型)的研究仍不明确, 传统观念认为肿瘤是由体细胞经过一系列的随机多基因突变而成, 突变后的细胞增殖能力加强, 凋亡基因沉默, 使每个肿瘤细胞都可以无限制地生长. 近年来研究显示, 肿瘤中, 绝大多数细胞失去了增殖和自我更新的能力而分化成为有明确肿瘤表型的成熟细胞, 仅有极少数的CSCs具有广泛增殖、自我更新和多向分化的潜能<sup>[7]</sup>, 故体细胞作为肿瘤起始细胞这一理论值得怀疑. LGR5<sup>+</sup>BMI1<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup>的ISCs中 $\beta$ -catenin通路的异常活化会导致腺瘤的发生, 由此可以推测ISCs可能是CRC的来源<sup>[29]</sup>.

### 3 CRC干细胞表面标志物与生物学特性

**3.1 CRC干细胞表面标志物** CSCs研究的关键是如何从肿瘤组织或肿瘤细胞中分离出CSCs. 目前主要有3种方法进行分选: (1)采用体外多细胞成球实验: 无血清悬浮培养分离法; (2)Hoechst荧光染料法; (3)表面标志物分选法, 比较常用的分选手段有流式细胞仪分选和免疫磁珠分选. 迄今为止发现的可用于描述CRC干细胞的表面分子标记有CD133<sup>+</sup><sup>[30-32]</sup>、EphB2<sup>high</sup><sup>[33]</sup>、EpCAM<sup>high</sup>/CD44<sup>+</sup>/CD166<sup>+</sup><sup>[34,35]</sup>、ALDH<sup>+</sup><sup>[36]</sup>、LGR5<sup>+</sup><sup>[37,38]</sup>、CD44v6<sup>+</sup><sup>[39]</sup>和DCLK1激酶<sup>[40]</sup>. 表达CSCs表面分子标记的细胞比例可能随肿瘤分期(因为在早期肿瘤中有非常明确的分层结构, 但是在晚期肿瘤中这种结构已被破坏)<sup>[5]</sup>、治疗时间、治疗方式、微环境因素和个体因素的变化而变化. 因此, 在肿瘤的发生发展过程中, CSCs的数量和表型一直是动态变化的. O'Brien等<sup>[41]</sup>和Ricci-Vitiani等<sup>[15]</sup>认为CD133可作为独立的CRC干细胞表面标志物, 但Shmelkov等<sup>[42]</sup>却认为CD133不能独立作为其表面标志物. 尽管研究<sup>[43,44]</sup>显示CD133<sup>+</sup>CRC细胞亚群在体内和体外的移植实验中均具有较强的成瘤性, 但并不是所有的CD133<sup>+</sup>肿瘤细胞都是CSCs<sup>[45]</sup>. 有研究<sup>[46]</sup>显示, CRC干细胞分化后CD133的mRNA水平并没有下降. 因为在CRC细胞系中, CD133不仅表达于CSCs的表面, 而且也表达在已经分化的肿瘤细胞表面. 此外, CD133的mRNA水平和蛋白水平在分化后均没有下调, 但是他的糖基化作用改变了, CSCs表面表达高度糖基化的CD133而分

化完成的细胞表面的CD133糖基化作用下降了, 糖基化作用使得CD133的空间结构发生改变, 所以CSCs表面的CD133抗体还是无法识别已经分化的细胞表面的CD133, 所以CD133仍可作为CRC干细胞较为可靠的标记分子<sup>[46]</sup>. 此外, ALDH1可作为CRC干细胞的另一个表面标志物<sup>[47]</sup>. Goossens-Beumer等<sup>[48]</sup>的研究也表明ALDH1、Survivin和EpCAM的联合表达是CRC患者的一个独立预后因子. Dalerba等<sup>[34]</sup>还发现CD166可作为CRC干细胞的候选标志物. CD166是间充质干细胞的表面标志物, 在CRC上皮细胞中呈异质性分布. 实验中的所有CRC标本中均存在EpCAM<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup>CD166<sup>+</sup>细胞亚群, 且CD166在原代肿瘤、移植瘤和正常结肠上皮中的表达具有重复性、持续性. 最近, 干细胞转录调控因子BMI1也被发现对调节CRC干细胞的自我更新能力有重要作用, 对BMI1的抑制会导致肿瘤生长过程中干细胞的缺失和损伤<sup>[49]</sup>.

**3.2 CRC干细胞的生物学特性** 除了表型分子, 另外一种鉴定CSCs的方法是通过其生物学特性来分辨. 目前认为, 动物体内成瘤实验是检验CSCs自我更新和无限增殖能力的金标准<sup>[50]</sup>. 干细胞有两种分裂方式, 即对称分裂和不对称分裂. 对称分裂产生两个与亲代完全相同的子代干细胞; 不对称分裂产生一个与亲代完全相同的子代干细胞和一个祖细胞, 祖细胞随后定向分化为终末细胞. CSCs具备上述干细胞特有的能力. 体外培养条件下, 单个肿瘤干细胞能分裂、增殖形成克隆性细胞球, 将其吹打成单细胞后, 仍能形成多个相同的克隆球. Dalerba等<sup>[34]</sup>从CRC组织中分离出少量EpCAM<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup>细胞, 将其接种于NOD/SCID鼠体内形成移植瘤, 再从移植瘤内分离出CRC干细胞少量接种, 又可形成相同表型的移植瘤.

化疗抵抗是CRC药物治疗效果低下的主要原因. Colak等<sup>[51]</sup>发现CRC干细胞发生选择性化疗抵抗与线粒体诱导效应降低有关, 通过使用BH3类似物ABT-737和WEHI-539可抑制抗凋亡蛋白Bcl-xL活性, 降低线粒体内膜去极化阈值, 提高化学治疗敏感性, 增强化学治疗效果. 此外, 研究<sup>[52]</sup>还发现对于结肠癌伴肝转移的患者来说, 凋亡蛋白抑制剂BIRC6是结肠癌干细胞对奥沙利铂与顺铂抵抗的重要调节因子, 靶向BIRC6的治疗有助于消除结肠

**□ 相关报道**  
本文表明结直肠癌干细胞和已分化的结直肠肿瘤细胞在辐射环境中存在一定的相互转换和动态平衡, 转化生长因子 $\beta$ 1通过激活上皮-间质转化在这种动态平衡中扮演着重要的角色.



### 创新视点

越来越多的证据表明, CSCs 是一类动态变化的细胞亚群, 同时受基因组学、表观遗传学及微环境因素的综合作用影响。

癌干细胞。

诸多研究<sup>[53,54]</sup>表明细胞的干性状态是动态变化的。干细胞的动态可理解为“可塑性”, 即细胞在不同功能状态间转换的能力, 比如静止/增殖, 药物敏感/药物抵抗, 对称分裂/不对称分裂, EMT/MET以及干细胞状态/非干细胞状态之间的转换等<sup>[55]</sup>。在CRC、黑色素瘤、乳腺癌等实体瘤中均发现CSCs和已经分化的CSCs之间的相互转换<sup>[5]</sup>。再者, CRC干细胞可能来源于祖细胞的去分化, 而这种去分化现象是核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路异常活化<sup>[56]</sup>或肿瘤相关细胞产生的细胞因子所致Wnt信号通路异常活化<sup>[57]</sup>的结果。CSCs相对于正常干细胞则具有更强的可塑性, 以致其具有更强的适应潜能; 正常干细胞通过组织再生维持稳态, 而CSCs则通过增加细胞数量以及自身调整为更具侵袭性的表型来产生应答。干预CSCs的可塑性可能会为传统和靶向抗肿瘤治疗提供新思路。

## 4 CRC干细胞的调控因素

**4.1 调节CRC干细胞的相关信号通路** 在正常干细胞中, 自我更新和分化的平衡由数个信号通路所调控, 一旦信号通路失控将形成肿瘤。在这些信号通路中, Wnt、转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、Notch和Hedgehog与多种肿瘤包括CRC的发生密切相关<sup>[58]</sup>。

**4.1.1 Wnt通路:** Wnt信号通路在上皮干细胞自我更新的调控中具有重要作用, 他的基因组性激活很可能会抑制肠道上皮细胞的终分化, 并导致CSCs的出现。活化的Wnt信号通路与CSCs表型密切相关。CRC干细胞标志物CD44和Lgr5/Gpr49是TCF/LEF的靶基因。绝大多数(>90%)的CRC患者有腺瘤性结肠息肉病或者 $\beta$ -catenin这两种突变中至少一种突变<sup>[59]</sup>。研究发现, Wnt信号通路中功能正常的TCF4对结直肠干细胞正常功能的维持起到重要作用。实验观察证实, 存在TCF4缺陷的小鼠, 其隐窝干细胞发育不良, 相反, 若持续刺激Wnt信号通路, 会激发细胞持续增长, 最终导致癌变发生, 而抑制Wnt信号通路中基因过度表达的Dickko-pf-1或人工删除TCF4, 均可阻断肿瘤细胞的Wnt信号通路, 抑制肿瘤细胞的生长和更新进程<sup>[60]</sup>。近期研究还表明, CSCs调节过

程中Wnt信号通路和Hippo信号通路之间还存在相互作用, 后者是器官大小控制和机械传导中的重要调节因子。Hippo信号通路的传感器YAP/TAZ是 $\beta$ -catenin信号通路胞内段复合体的组成部分, 而且他们的核异位对细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的活化是至关重要的<sup>[61]</sup>。综上, 我们可以发现Wnt信号通路与CRC干细胞的调节密切相关。但是迄今为止, 仍没有针对这条通路的有效靶向治疗方法问世<sup>[59]</sup>。APC作为一种抑癌基因, 只有APC蛋白下游的信号传感器可以作为药物干预的靶点<sup>[59]</sup>。有研究<sup>[62,63]</sup>已经证实, TRAF2和NCK相互作用蛋白激酶是Wnt信号通路最下游的调节因子, 靶向针对这种蛋白激酶的一些小分子抑制剂正在研发过程中<sup>[59]</sup>, 有望早日应用于临床实践中。

**4.1.2 TGF- $\beta$ /BMP通路:** 骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)是TGF- $\beta$ 超家族中的重要成员, TGF- $\beta$ /BMP信号通路有调节细胞增殖、分化、迁移和凋亡的功能, 他能够抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路。TGF- $\beta$ 信号通路的失调是CRC进展的关键。许多CRC患者能逃避TGF- $\beta$ 对肿瘤细胞的抑制作用, 抵抗TGF- $\beta$ 诱导的细胞凋亡机制。此外, TGF- $\beta$ 可以从抑癌角色转变为促进肿瘤生长的角色, 这种角色的转变是在有如p53<sup>[64]</sup>、SMAD4<sup>[65]</sup>等基因突变后出现的。有学者<sup>[66]</sup>已经证实当结肠癌转移到肝脏时, 结肠癌干细胞向微环境中释放TGF- $\beta$ , 后者促进肿瘤干细胞周围的巨噬细胞、白细胞、成纤维细胞和内皮细胞释放白介素(interleukin, IL)-11, 进而引起肿瘤干细胞一系列的改变, 最终使肿瘤细胞能够在异质器官中存活。最近研究<sup>[67]</sup>还发现, 在结肠腺癌中, 转录因子GATA6是Wnt和BMP信号通路的一个重要调节因子。他能够通过 $\beta$ -catenin/TCF4竞争性结合BMP4位点的调节区域而抑制BMP信号通路, 从而抑制BMP的表达进而促进CSCs扩增和自我更新。

**4.1.3 Notch通路:** Notch信号通路是干细胞信号网络中的重要通路, 在细胞发育、分化、增殖和凋亡方面等具有重要的调节作用<sup>[68]</sup>。Notch配体转导信号至CSL-NICD-Mastermind复合体, 通过激活HES1、HES5、HEY1和HEY2基因的转录活性来维持干细胞的功能状态。有研究<sup>[69]</sup>表明, 在结肠肿瘤细胞系HCT-116中, Notch-1的激活表达会促进Jagged-1、

Smad-3、Slug和CD44等EMT及干细胞样表型的表达. 相比于普通的结肠肿瘤细胞, CSCs内有高达10-30倍信号强度的Notch信号通路<sup>[70]</sup>. 研究<sup>[71,72]</sup>还发现, Notch通过抑制细胞周期激酶抑制剂p27和转录因子ATOH1, 在CSCs自我更新和抵抗凋亡过程中扮演十分重要的角色. 在CRC异种移植瘤实验中, 抑制Delta样配体活性会降低HES1的水平、CSCs的数量及肿瘤的生长<sup>[73,74]</sup>. CSCs内会持续表达高水平的HES1、Notch-1和Jagged-1<sup>[72]</sup>, 使用shRNAs技术阻断Notch信号通路不仅会降低HES1的水平, 同时会促使细胞分化. 在另一项研究中, 研究者使用小鼠模型证明HES1会抑制细胞分化以及生长抑制因子p27/CDK1B的表达<sup>[73]</sup>. 研究<sup>[75]</sup>还发现Delta样配体4可激活Notch通路, 导致干细胞标志物MUSASHI(MSI-1)表达增加, 而使用Notch2/3抗体可降低MSI-1水平, 增加Notch通路抑制因子NUMB的表达, 进而抑制肿瘤的转移. 综上, Notch信号通路与CSCs的形成和状态维持都密切相关, 他的异常激活会导致CRC的转移与肿瘤形成.

**4.2 上皮间质转化对CRC干细胞干性的影响** 上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 是指上皮细胞通过特异的生物学机制致上皮表型消失而转化为具有间质表型的细胞的生物学过程<sup>[76]</sup>. 研究<sup>[77]</sup>表明, EMT是上皮细胞源性恶性肿瘤细胞获得较强侵袭及迁移能力等恶性行为的重要生物学过程. 肿瘤上皮细胞发生EMT后, 细胞也伴随着CSCs特异性表型的表达<sup>[78]</sup>, 这意味着EMT的发展过程与CSCs具有重要联系. Leng等<sup>[79]</sup>通过结肠癌细胞DLD-1的成球实验表明, 无血清悬浮培养结肠癌细胞DLD-1所形成的细胞球, 发生了EMT, 并具有CSCs的特征, 其转移相关性, 如侵袭与迁移能力, 与EMT有着密切的联系. 再者, TGF- $\beta$ 在EMT过程中发挥着重要的作用, 研究<sup>[80]</sup>表明其可诱导EMT的发生. 预先用TGF- $\beta$ 1处理的结肠腺癌Mc38-luc细胞注射到小鼠脾脏, 发现TGF- $\beta$ 1介导的EMT能够诱导结肠肿瘤的形成并使肿瘤细胞出现CSCs的表型分子如CD44和SOX2, 而且TGF- $\beta$ 1的封闭抗体P17会使上述两者标记分子表达量下降<sup>[81]</sup>. 而另一方面, 鉴于高迁移率蛋白A1(high mobility group, HMGA1)是CRC细胞转移分子机制中关键的转录因子, Belton等<sup>[82]</sup>在转基

因小鼠中利用HMGA1可诱导CRC CSCs表达Twist1蛋白, 从而抑制E-cadherin的表达, 促进肿瘤发生EMT, 从而导致肿瘤转移的发生, 而HMGA-1的敲除可阻断肿瘤细胞的锚定并发生非依赖性生长, 进而抑制体内肿瘤发生肝转移. Bak等<sup>[83]</sup>还发现IL-32 $\delta$ 作为一种常见的炎症细胞因子, 可通过结合STAT3并抑制其核转位而抑制结肠癌中CSCs因子的表达和EMT转化, 从而导致HT29结肠癌细胞的侵袭、转移能力下降. 近期还有研究<sup>[84]</sup>表明, 钙感受体不仅可以抑制结肠癌发生EMT, 还能够抑制其干细胞特性的获得. EMT对肿瘤发生过程中的影响与胚胎发育过程中的影响相类似, 会促进癌细胞的扩散转移, 提高癌细胞的自我更新能力, 因此提高了癌细胞的干性, 从而促进肿瘤宏观转移的形成.

**4.3 CRC干细胞和miRNAs** 近年来研究发现, miRNAs也在CRC干细胞的增殖、分化等方面发挥调节作用. Fang等<sup>[85]</sup>的研究显示, miR-449b可通过下调CCND1和E2F3的表达水平抑制结肠癌干细胞SW1116的增殖. 体外实验中还发现, miR-93能够抑制人结肠癌干细胞的增殖和克隆形成<sup>[86]</sup>, 临床研究<sup>[87]</sup>也显示人结肠癌组织中miR-93的水平相比正常结肠组织明显下调, 而且miR-93的低水平表达与结肠癌患者的不良预后密切相关. 还有miR-451也参与了CRC干细胞的自我更新、肿瘤形成及化疗抵抗的过程<sup>[88]</sup>. 总之, 部分miRNAs参与了CRC干细胞的调控机制, 很可能是CSCs调控网络中的一员, 其具体功能的作用及上下游关系还有待进一步的研究证实.

**4.4 CRC干细胞所处的微环境** 肿瘤干细胞的生存需要特定的肿瘤微环境, 目前认为大多数CSCs都存在于壁龛中, 这和普通的干细胞相类似, 是被特意化的肿瘤微环境, 可以保护CSCs不被分化, 是其保持干性的基础空间. 肿瘤干细胞与其壁龛环境关系密切, 肿瘤不仅可以适应肿瘤微环境的变化, 还可以影响肿瘤的微环境. 近年来有关肿瘤干细胞和肿瘤微环境的相互作用已成为研究热点. 在CRC中, 有研究发现, Wnt信号通路被高度激活的肿瘤细胞在组织结构分布上常常靠近肿瘤相关的成纤维细胞, 深入研究<sup>[89]</sup>表明, 这种成纤维细胞可以分泌肝细胞生长因子激活肿瘤细胞的Wnt信号通路, 调节肿瘤干细胞的干性. Schwitalla等<sup>[56]</sup>发

#### 应用要点

在没有Smad4突变和PI3K活化同时发生的结直肠癌中, 骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)4可促进结肠癌干细胞发生终末分化、凋亡并使其放疗敏感性增加, 这样使得BMP4可能作为针对晚期结直肠癌中CSCs的一个新的治疗靶点.

# ■名词解释

肿瘤干细胞(CSCs): 是肿瘤中极小一部分具有无限自我更新、多向分化潜能和高度恶性的肿瘤细胞亚群, 其已被证实存在于包括结肠癌在内的多种类型肿瘤中。

现在在炎症肿瘤微环境中, 核因子NF- $\kappa$ B通过活化的Wnt信号通路诱导非干细胞去分化, 从而使组织获得肿瘤发生的能力, 消除特定的肠上皮细胞RelA/p65(NF- $\kappa$ B亚单位)可阻断肠腺窝干细胞的扩增, 表明体内炎症环境对CRC干细胞的产生具有重要作用。此外, 憩室中正常干细胞和突变干细胞之间的竞争也受炎症环境的影响: p53突变的干细胞在正常微环境中 and 野生型细胞无明显差别, 但是在炎症肠道中却占有明显优势<sup>[88]</sup>。Fatrai等<sup>[90]</sup>的研究也表明, 由已经分化的肿瘤细胞和未分化的干细胞样肿瘤细胞旁分泌的干细胞因子, 有助于维持肿瘤细胞的干性特征, 尤其是在乏氧的情况下。还有研究表明结肠癌干细胞和已分化的结肠肿瘤细胞在辐射环境中存在一定的相互转换和动态平衡, TGF- $\beta$ 1通过激活EMT在这种动态平衡中扮演着重要的角色。

## 5 CRC干细胞与疾病预防、治疗的相关性

干细胞模型的发现, 可能对肿瘤的预防和治疗产生重要意义。可能的预防和治疗措施有: (1)早期识别正常的组织干细胞和CSCs, 并对CSCs进行干预: 由于CSCs可能来源于正常组织干细胞, 因此早期准确识别并清除CSCs可能成为一种预防肿瘤发生的手段; (2)针对CSCs内部异常活化的信号通路进行干预, 如Wnt途径、TGF- $\beta$ /BMP途径、Notch途径等, 均可以促进细胞分化, 减少细胞增殖; (3)消除微环境对干细胞的不良影响, 在肉眼可见的肿瘤出现之前, 肿瘤周围的基质细胞已经发生遗传和表观遗传改变, 平衡微环境中各种细胞和生长因子、炎症因子水平, 可降低正常干细胞向CSCs转化的概率<sup>[91]</sup>; (4)增强CSCs对化疗药物的敏感性, 如Todaro等<sup>[92]</sup>发现, CD133<sup>+</sup>结肠癌细胞对化疗药物5-Fu或奥沙利铂的抵抗性比CD133<sup>-</sup>结肠癌细胞更强, 但是在加入IL-4抗体后, CD133<sup>+</sup>结肠癌细胞对化疗药物的敏感性增加, 药物可显著抑制肿瘤生长。研究<sup>[93]</sup>还发现, 在没有Smad4突变和PI3K活化同时发生的CRC中, BMP4可促进CRC干细胞发生终末分化、凋亡并使其放疗敏感性增加, 这样使得BMP4可能作为针对晚期CRC中CSCs的一个治疗靶点。近期有文献发现, 硫链丝菌素可以选择性诱导人HCT-15和HT-29结肠癌细胞以及发生了EMT和放疗抵抗的子代细胞系中结

肠癌干细胞亚群的凋亡, 硫链丝菌素和奥沙利铂的联合应用比各自单药应用更有利于消除CD44<sup>+</sup>HCT-15和CD44<sup>+</sup>HT-29, 而肿瘤转录因子FoxM1是硫链丝菌素在结肠癌细胞系中的主要靶点<sup>[94]</sup>。

## 6 结论

CRC干细胞在CRC的发生发展的各个阶段均发挥了重要作用。目前对CRC干细胞的标志物、生物学特性及信号通路的研究取得了较大进步, 但对于其与microRNAs、EMT及微环境等的相互作用机制还不甚明了。我们对CRC干细胞细胞水平和分子水平更加深入的研究, 为CRC的诊断和治疗提供了新思路, 将来CRC的治疗不仅可以关注CSCs本身, 还可部分转向CSCs微环境, 利用CSCs理论为人类早日治愈肿瘤提出新的思路。

## 7 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 7-30 [PMID: 26742998 DOI: 10.3322/caac.21332]
- 2 Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-767 [PMID: 2188735 DOI: 10.1016/0092-8674(90)90186-i]
- 3 De Sousa E Melo F, Vermeulen L, Fessler E, Medema JP. Cancer heterogeneity--a multifaceted view. *EMBO Rep* 2013; 14: 686-695 [PMID: 23846313 DOI: 10.1038/embor.2013.92]
- 4 Wersto RP, Liblit RL, Deitch D, Koss LG. Variability in DNA measurements in multiple tumor samples of human colonic carcinoma. *Cancer* 1991; 67: 106-115 [PMID: 1985705 DOI: 10.1002/1097-0142(199101)67:1<106::AID-CNCR2820670120>3.0.CO;2-I]
- 5 Kreso A, Dick JE. Evolution of the cancer stem cell model. *Cell Stem Cell* 2014; 14: 275-291 [PMID: 24607403 DOI: 10.1016/j.stem.2014.02.006]
- 6 Fearon ER, Carethers JM. Molecular subtyping of colorectal cancer: time to explore both intertumoral and intratumoral heterogeneity to evaluate patient outcome. *Gastroenterology* 2015; 148: 10-13 [PMID: 25451650 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.11.024]
- 7 Kopper L, Hajdú M. Tumor stem cells. *Pathol Oncol Res* 2004; 10: 69-73 [PMID: 15188021 DOI: 10.1007/BF02893458]
- 8 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 [PMID: 9212098 DOI: 10.1038/nm0797-730]
- 9 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 [PMID: 12629218 DOI: 10.1073/pnas.0530291100]
- 10 Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD, Dirks PB. Identification of human brain tumour



- initiating cells. *Nature* 2004; 432: 396-401 [PMID: 15549107 DOI: 10.1038/nature03128]
- 11 Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, Lawrence S, Babar I, Vogel S, Crowley D, Bronson RT, Jacks T. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 2005; 121: 823-835 [PMID: 15960971 DOI: 10.1016/j.cell.2005.03.032]
  - 12 Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, Li H, Bhatia B, Tang S, Reilly JG, Chandra D, Zhou J, Claypool K, Coghlan L, Tang DG. Highly purified CD44+ prostate cancer cells from xenograft human tumors are enriched in tumorigenic and metastatic progenitor cells. *Oncogene* 2006; 25: 1696-1708 [PMID: 16449977 DOI: 10.1038/sj.onc.1209327]
  - 13 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 [PMID: 16230395 DOI: 10.1158/0008-5472.can-05-1343]
  - 14 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 USA* 2007; 104: 973-978 [PMID: 17210912 DOI: 10.1073/pnas.0610117104]
  - 15 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 DOI: 10.1038/nature05384]
  - 16 Beck B, Blanpain C. Unravelling cancer stem cell potential. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 727-738 [PMID: 24060864 DOI: 10.1038/nrc3597]
  - 17 Liu J, Walker NM, Cook MT, Ootani A, Clarke LL. Functional Cfr in crypt epithelium of organotypic enteroid cultures from murine small intestine. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012; 302: C1492-C1503 [PMID: 22403785 DOI: 10.1152/ajpcell.00392.2011]
  - 18 Quyn AJ, Appleton PL, Carey FA, Steele RJ, Barker N, Clevers H, Ridgway RA, Sansom OJ, Näthke IS. Spindle orientation bias in gut epithelial stem cell compartments is lost in precancerous tissue. *Cell Stem Cell* 2010; 6: 175-181 [PMID: 20144789 DOI: 10.1016/j.stem.2009.12.007]
  - 19 Potten CS, Hume WJ, Reid P, Cairns J. The segregation of DNA in epithelial stem cells. *Cell* 1978; 15: 899-906 [PMID: 728994 DOI: 10.1016/0092-8674(78)90274-x]
  - 20 Hirsch D, Barker N, McNeil N, Hu Y, Camps J, McKinnon K, Clevers H, Ried T, Gaiser T. LGR5 positivity defines stem-like cells in colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2014; 35: 849-858 [PMID: 24282287 DOI: 10.1093/carcin/bgt377]
  - 21 Yan KS, Chia LA, Li X, Ootani A, Su J, Lee JY, Su N, Luo Y, Heilshorn SC, Amieva MR, Sangiorgi E, Capecchi MR, Kuo CJ. The intestinal stem cell markers Bmi1 and Lgr5 identify two functionally distinct populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: 466-471 [PMID: 22190486 DOI: 10.1073/pnas.1118857109]
  - 22 Takeda N, Jain R, LeBoeuf MR, Wang Q, Lu MM, Epstein JA. Interconversion between intestinal stem cell populations in distinct niches. *Science* 2011; 334: 1420-1424 [PMID: 22075725 DOI: 10.1126/science.1213214]
  - 23 Tian H, Biehs B, Warming S, Leong KG, Rangell L, Klein OD, de Sauvage FJ. A reserve stem cell population in small intestine renders Lgr5-positive cells dispensable. *Nature* 2011; 478: 255-259 [PMID: 21927002 DOI: 10.1038/nature10408]
  - 24 Barker N, van Es JH, Kuipers J, Kujala P, van den Born M, Cozijnsen M, Haegebarth A, Korving J, Begthel H, Peters PJ, Clevers H. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 2007; 449: 1003-1007 [PMID: 17934449 DOI: 10.1038/nature06196]
  - 25 Hirata A, Utikal J, Yamashita S, Aoki H, Watanabe A, Yamamoto T, Okano H, Bardeesy N, Kunisada T, Ushijima T, Hara A, Jaenisch R, Hochedlinger K, Yamada Y. Dose-dependent roles for canonical Wnt signalling in de novo crypt formation and cell cycle properties of the colonic epithelium. *Development* 2013; 140: 66-75 [PMID: 23222438 DOI: 10.1242/dev.084103]
  - 26 Powell AE, Wang Y, Li Y, Poulin EJ, Means AL, Washington MK, Higginbotham JN, Juchheim A, Prasad N, Levy SE, Guo Y, Shyr Y, Aronow BJ, Haigis KM, Franklin JL, Coffey RJ. The pan-ErbB negative regulator Lrig1 is an intestinal stem cell marker that functions as a tumor suppressor. *Cell* 2012; 149: 146-158 [PMID: 22464327 DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.042]
  - 27 Westphalen CB, Asfaha S, Hayakawa Y, Takemoto Y, Lukin DJ, Nuber AH, Brandtner A, Setlik W, Remotti H, Muley A, Chen X, May R, Houchen CW, Fox JG, Gershon MD, Quante M, Wang TC. Long-lived intestinal tuft cells serve as colon cancer-initiating cells. *J Clin Invest* 2014; 124: 1283-1295 [PMID: 24487592 DOI: 10.1172/jci73434]
  - 28 Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 1998; 396: 643-649 [PMID: 9872311 DOI: 10.1038/25292]
  - 29 Zhu L, Gibson P, Currle DS, Tong Y, Richardson RJ, Bayazitov IT, Poppleton H, Zakharenko S, Ellison DW, Gilbertson RJ. Prominin 1 marks intestinal stem cells that are susceptible to neoplastic transformation. *Nature* 2009; 457: 603-607 [PMID: 19092805 DOI: 10.1038/nature07589]
  - 30 Horst D, Kriegl L, Engel J, Kirchner T, Jung A. CD133 expression is an independent prognostic marker for low survival in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2008; 99: 1285-1289 [PMID: 18781171 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604664]
  - 31 Haraguchi N, Ohkuma M, Sakashita H, Matsuzaki S, Tanaka F, Mimori K, Kamohara Y, Inoue H, Mori M. CD133+CD44+ population efficiently enriches colon cancer initiating cells. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 2927-2933 [PMID: 18663533 DOI: 10.1245/s10434-008-0074-0]
  - 32 Dieter SM, Ball CR, Hoffmann CM, Nowrouzi A, Herbst F, Zavidij O, Abel U, Arens A, Weichert W, Brand K, Koch M, Weitz J, Schmidt M, von Kalle C, Glimm H. Distinct types of tumor-initiating cells form human colon cancer tumors and metastases. *Cell Stem Cell* 2011; 9: 357-365 [PMID: 21982235 DOI: 10.1016/j.stem.2011.08.010]
  - 33 Jung P, Sato T, Merlos-Suárez A, Barriga FM, Iglesias M, Rossell D, Auer H, Gallardo M, Blasco MA, Sancho E, Clevers H, Batlle E. Isolation and

□ 同行评价  
本文对结肠肿瘤干细胞的研究进展进行了综述, 内容详细, 表述合理清楚。

- in vitro expansion of human colonic stem cells. *Nat Med* 2011; 17: 1225-1227 [PMID: 21892181 DOI: 10.1038/nm.2470]
- 34 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 USA* 2007; 104: 10158-10163 [PMID: 17548814 DOI: 10.1073/pnas.0703478104]
  - 35 Vermeulen L, Todaro M, de Sousa Mello F, Sprick MR, Kemper K, Perez Alea M, Richel DJ, Stassi G, Medema JP. Single-cell cloning of colon cancer stem cells reveals a multi-lineage differentiation capacity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 13427-13432 [PMID: 18765800 DOI: 10.1073/pnas.0805706105]
  - 36 Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, Jacquemier J, Viens P, Kleer CG, Liu S, Schott A, Hayes D, Birnbaum D, Wicha MS, Dontu G. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 555-567 [PMID: 18371393 DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.014]
  - 37 Glinka A, Dolde C, Kirsch N, Huang YL, Kazanskaya O, Ingelfinger D, Boutros M, Cruciat CM, Niehrs C. LGR4 and LGR5 are R-spondin receptors mediating Wnt/ $\beta$ -catenin and Wnt/PCP signalling. *EMBO Rep* 2011; 12: 1055-1061 [PMID: 21909076 DOI: 10.1038/embor.2011.175]
  - 38 Kemper K, Prasetyanti PR, De Lau W, Rodermond H, Clevers H, Medema JP. Monoclonal antibodies against Lgr5 identify human colorectal cancer stem cells. *Stem Cells* 2012; 30: 2378-2386 [PMID: 22969042 DOI: 10.1002/stem.1233]
  - 39 Todaro M, Gaggiani M, Catalano V, Benfante A, Iovino F, Biffoni M, Apuzzo T, Sperduti I, Volpe S, Cocorullo G, Gulotta G, Dieli F, De Maria R, Stassi G. CD44v6 is a marker of constitutive and reprogrammed cancer stem cells driving colon cancer metastasis. *Cell Stem Cell* 2014; 14: 342-356 [PMID: 24607406 DOI: 10.1016/j.stem.2014.01.009]
  - 40 O'Connell MR, Sarkar S, Luthra GK, Okugawa Y, Toiyama Y, Gajjar AH, Qiu S, Goel A, Singh P. Epigenetic changes and alternate promoter usage by human colon cancers for expressing DCLK1-isoforms: Clinical Implications. *Sci Rep* 2015; 5: 14983 [PMID: 26447334 DOI: 10.1038/srep14983]
  - 41 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 [PMID: 17122772 DOI: 10.1038/nature05372]
  - 42 Shmelkov SV, Butler JM, Hooper AT, Hormigo A, Kushner J, Milde T, St Clair R, Baljevic M, White I, Jin DK, Chadburn A, Murphy AJ, Valenzuela DM, Gale NW, Thurston G, Yancopoulos GD, D'Angelica M, Kemeny N, Lyden D, Rafii S. CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133+ and CD133- metastatic colon cancer cells initiate tumors. *J Clin Invest* 2008; 118: 2111-2120 [PMID: 18497886 DOI: 10.1172/JCI34401]
  - 43 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 [PMID: 18371365 DOI: 10.1016/j.stem.2007.06.002]
  - 44 Ieta K, Tanaka F, Haraguchi N, Kita Y, Sakashita H, Mimori K, Matsumoto T, Inoue H, Kuwano H, Mori M. Biological and genetic characteristics of tumor-initiating cells in colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 638-648 [PMID: 17932721 DOI: 10.1245/s10434-007-9605-3]
  - 45 Inoda S, Hirohashi Y, Torigoe T, Morita R, Takahashi A, Asanuma H, Nakatsugawa M, Nishizawa S, Tamura Y, Tsuruma T, Terui T, Kondo T, Ishitani K, Hasegawa T, Hirata K, Sato N. Cytotoxic T lymphocytes efficiently recognize human colon cancer stem-like cells. *Am J Pathol* 2011; 178: 1805-1813 [PMID: 21435460 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.01.004]
  - 46 Kemper K, Sprick MR, de Bree M, Scopelliti A, Vermeulen L, Hoek M, Zeilstra J, Pals ST, Mehmet H, Stassi G, Medema JP. The AC133 epitope, but not the CD133 protein, is lost upon cancer stem cell differentiation. *Cancer Res* 2010; 70: 719-729 [PMID: 20068153 DOI: 10.1158/0008-5472.can-09-1820]
  - 47 Dylla SJ, Beviglia L, Park IK, Chartier C, Raval J, Ngan L, Pickell K, Aguilar J, Lazetic S, Smith-Berdan S, Clarke MF, Hoey T, Lewicki J, Gurney AL. Colorectal cancer stem cells are enriched in xenogeneic tumors following chemotherapy. *PLoS One* 2008; 3: e2428 [PMID: 18560594 DOI: 10.1371/journal.pone.0002428]
  - 48 Goossens-Beumer IJ, Zeestraten EC, Benard A, Christen T, Reimers MS, Keijzer R, Sier CF, Liefers GJ, Morreau H, Putter H, Vahrmeijer AL, van de Velde CJ, Kuppen PJ. Clinical prognostic value of combined analysis of Aldh1, Survivin, and EpCAM expression in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2014; 110: 2935-2944 [PMID: 24786601 DOI: 10.1038/bjc.2014.226]
  - 49 Kreso A, van Galen P, Pedley NM, Lima-Fernandes E, Frelin C, Davis T, Cao L, Baiazitov R, Du W, Sydorenko N, Moon YC, Gibson L, Wang Y, Leung C, Iscove NN, Arrowsmith CH, Szentgyorgyi E, Gallinger S, Dick JE, O'Brien CA. Self-renewal as a therapeutic target in human colorectal cancer. *Nat Med* 2014; 20: 29-36 [PMID: 24292392 DOI: 10.1038/nm.3418]
  - 50 Fennema E, Rivron N, Rouwkema J, van Blitterswijk C, de Boer J. Spheroid culture as a tool for creating 3D complex tissues. *Trends Biotechnol* 2013; 31: 108-115 [PMID: 23336996 DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.12.003]
  - 51 Colak S, Zimmerlin CD, Fessler E, Hogdal L, Prasetyanti PR, Grandela CM, Letai A, Medema JP. Decreased mitochondrial priming determines chemoresistance of colon cancer stem cells. *Cell Death Differ* 2014; 21: 1170-1177 [PMID: 24682005 DOI: 10.1038/cdd.2014.37]
  - 52 Van Houdt WJ, Emmink BL, Pham TV, Piersma SR, Verheem A, Vries RG, Fratantoni SA, Pronk A, Clevers H, Borel Rinkes IH, Jimenez CR, Kranenburg O. Comparative proteomics of colon cancer stem cells and differentiated tumor cells identifies BIRC6 as a potential therapeutic target. *Mol Cell Proteomics* 2011; 10: 855-858 [PMID: 21435460 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.01.004]



- 21788403 DOI: 10.1074/mcp.M111.011353-1]
- 53 Huang S. Reprogramming cell fates: reconciling rarity with robustness. *Bioessays* 2009; 31: 546-560 [PMID: 19319911 DOI: 10.1002/bies.200800189]
  - 54 MacArthur BD. Collective dynamics of stem cell populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 3653-3654 [PMID: 24591612 DOI: 10.1073/pnas.1401030111]
  - 55 Meacham CE, Morrison SJ. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature* 2013; 501: 328-337 [PMID: 24048065 DOI: 10.1038/nature12624]
  - 56 Schwitalla S, Fingerle AA, Cammareri P, Nebelsiek T, Göktuna SI, Ziegler PK, Canli O, Heijmans J, Huels DJ, Moreaux G, Rupec RA, Gerhard M, Schmid R, Barker N, Clevers H, Lang R, Neumann J, Kirchner T, Taketo MM, van den Brink GR, Sansom OJ, Arkan MC, Greten FR. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties. *Cell* 2013; 152: 25-38 [PMID: 23273993 DOI: 10.1016/j.cell.2012.12.012]
  - 57 Kryczek I, Lin Y, Nagarsheth N, Peng D, Zhao L, Zhao E, Vatan L, Szeliga W, Dou Y, Owens S, Zgodzinski W, Majewski M, Wallner G, Fang J, Huang E, Zou W. IL-22(+)CD4(+) T cells promote colorectal cancer stemness via STAT3 transcription factor activation and induction of the methyltransferase DOT1L. *Immunity* 2014; 40: 772-784 [PMID: 24816405 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.010]
  - 58 Vaipopoulos AG, Kostakis ID, Koutsilieris M, Papavassiliou AG. Colorectal cancer stem cells. *Stem Cells* 2012; 30: 363-371 [PMID: 22232074 DOI: 10.1002/stem.1031]
  - 59 Sawa M, Masuda M, Yamada T. Targeting the Wnt signaling pathway in colorectal cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2016; 20: 419-429 [PMID: 26439805 DOI: 10.1517/14728222.2016.1098619]
  - 60 van de Wetering M, Sancho E, Verweij C, de Lau W, Oving I, Hurlstone A, van der Horn K, Batlle E, Coudreuse D, Haramis AP, Tjon-Pon-Fong M, Moerer P, van den Born M, Soete G, Pals S, Eilers M, Medema R, Clevers H. The beta-catenin/TCF-4 complex imposes a crypt progenitor phenotype on colorectal cancer cells. *Cell* 2002; 111: 241-250 [PMID: 12408868 DOI: 10.1016/S0092-8674(02)01014-0]
  - 61 Azzolin L, Panciera T, Soligo S, Enzo E, Biciato S, Dupont S, Bresolin S, Frasson C, Basso G, Guzzardo V, Fassina A, Cordenonsi M, Piccolo S. YAP/TAZ incorporation in the Wnt response. *Cell* 2014; 158: 157-170 [PMID: 24976009 DOI: 10.1016/j.cell.2014.06.013]
  - 62 Mahmoudi T, Li VS, Ng SS, Taouatas N, Vries RG, Mohammed S, Heck AJ, Clevers H. The kinase TNIK is an essential activator of Wnt target genes. *EMBO J* 2009; 28: 3329-3340 [PMID: 19816403 DOI: 10.1038/emboj.2009.285]
  - 63 Shitashige M, Satow R, Jigami T, Aoki K, Honda K, Shibata T, Ono M, Hirohashi S, Yamada T. Traf2- and Nck-interacting kinase is essential for Wnt signaling and colorectal cancer growth. *Cancer Res* 2010; 70: 5024-5033 [PMID: 20530691 DOI: 10.1158/0008-5472.can-10-0306]
  - 64 Adorno M, Cordenonsi M, Montagner M, Dupont S, Wong C, Hann B, Solari A, Bobisse S, Rondina MB, Guzzardo V, Parenti AR, Rosato A, Biciato S, Balmain A, Piccolo S. A Mutant-p53/Smad complex opposes p63 to empower TGFbeta-induced metastasis. *Cell* 2009; 137: 87-98 [PMID: 19345189 DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.039]
  - 65 Zhang B, Halder SK, Kashikar ND, Cho YJ, Datta A, Gorden DL, Datta PK. Antimetastatic role of Smad4 signaling in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 969-80.e1-e3 [PMID: 19909744 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.11.004]
  - 66 Calon A, Tauriello DV, Batlle E. TGF-beta in CAF-mediated tumor growth and metastasis. *Semin Cancer Biol* 2014; 25: 15-22 [PMID: 24412104 DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.12.008]
  - 67 Whissell G, Montagni E, Martinelli P, Hernando-Momblona X, Sevillano M, Jung P, Cortina C, Calon A, Abuli A, Castells A, Castellvi-Bel S, Nacht AS, Sancho E, Stephan-Otto Attolini C, Vicent GP, Real FX, Batlle E. The transcription factor GATA6 enables self-renewal of colon adenoma stem cells by repressing BMP gene expression. *Nat Cell Biol* 2014; 16: 695-707 [PMID: 24952462 DOI: 10.1038/ncb2992]
  - 68 Previs RA, Coleman RL, Harris AL, Sood AK. Molecular pathways: translational and therapeutic implications of the Notch signaling pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 955-961 [PMID: 25388163 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-14-0809]
  - 69 Fender AW, Nutter JM, Fitzgerald TL, Bertrand FE, Sigounas G. Notch-1 promotes stemness and epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer. *J Cell Biochem* 2015; 116: 2517-2527 [PMID: 25914224 DOI: 10.1002/jcb.25196]
  - 70 Vinson KE, George DC, Fender AW, Bertrand FE, Sigounas G. The Notch pathway in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2016; 138: 1835-1842 [PMID: 26264352 DOI: 10.1002/ijc.29800]
  - 71 Roy S, Majumdar AP. Signaling in colon cancer stem cells. *J Mol Signal* 2012; 7: 11 [PMID: 22866952 DOI: 10.1186/1750-2187-7-11]
  - 72 Sikandar SS, Pate KT, Anderson S, Dizon D, Edwards RA, Waterman ML, Lipkin SM. NOTCH signaling is required for formation and self-renewal of tumor-initiating cells and for repression of secretory cell differentiation in colon cancer. *Cancer Res* 2010; 70: 1469-1478 [PMID: 20145124 DOI: 10.1158/0008-5472.can-09-2557]
  - 73 Karamboulas C, Ailles L. Developmental signaling pathways in cancer stem cells of solid tumors. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830: 2481-2495 [PMID: 23196196 DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.11.008]
  - 74 Hoey T, Yen WC, Axelrod F, Basi J, Donigian L, Dylla S, Fitch-Bruhns M, Lazetic S, Park IK, Sato A, Satyal S, Wang X, Clarke MF, Lewicki J, Gurney A. DLL4 blockade inhibits tumor growth and reduces tumor-initiating cell frequency. *Cell Stem Cell* 2009; 5: 168-177 [PMID: 19664991 DOI: 10.1016/j.stem.2009.05.019]
  - 75 Pastò A, Serafin V, Pilotto G, Lago C, Bellio C, Trusolino L, Bertotti A, Hoey T, Plateroti M, Esposito G, Pinazza M, Agostini M, Nitti D, Amadori A, Indraccolo S. NOTCH3 signaling regulates MUSASHI-1 expression in metastatic colorectal cancer cells. *Cancer Res* 2014; 74: 2106-2118 [PMID: 24525742 DOI: 10.1158/0008-5472.

- can-13-2022]
- 76 Scheel C, Weinberg RA. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol* 2012; 22: 396-403 [PMID: 22554795 DOI: 10.1016/j.semcancer.2012.04.001]
- 77 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 [PMID: 20490631 DOI: 10.1007/s10911-010-9178-9]
- 78 Schramm HM. Should EMT of Cancer Cells Be Understood as Epithelial-Myeloid Transition? *J Cancer* 2014; 5: 125-132 [PMID: 24494030 DOI: 10.7150/jca.8242]
- 79 Leng Z, Tao K, Xia Q, Tan J, Yue Z, Chen J, Xi H, Li J, Zheng H. Krüppel-like factor 4 acts as an oncogene in colon cancer stem cell-enriched spheroid cells. *PLoS One* 2013; 8: e56082 [PMID: 23418515 DOI: 10.1371/journal.pone.0056082]
- 80 Mayer B, Johnson JP, Leidl F, Jauch KW, Heiss MM, Schildberg FW, Birchmeier W, Funke I. E-cadherin expression in primary and metastatic gastric cancer: down-regulation correlates with cellular dedifferentiation and glandular disintegration. *Cancer Res* 1993; 53: 1690-1695 [PMID: 8453643]
- 81 Zubeldia IG, Bleau AM, Redrado M, Serrano D, Agliano A, Gil-Puig C, Vidal-Vanaclocha F, Lecanda J, Calvo A. Epithelial to mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes leading to liver metastasis are abrogated by the novel TGFβ1-targeting peptides P17 and P144. *Exp Cell Res* 2013; 319: 12-22 [PMID: 23153552 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.11.004]
- 82 Belton A, Gabrovsky A, Bae YK, Reeves R, Iacobuzio-Donahue C, Huso DL, Resar LM. HMGA1 induces intestinal polyposis in transgenic mice and drives tumor progression and stem cell properties in colon cancer cells. *PLoS One* 2012; 7: e30034 [PMID: 22276142 DOI: 10.1371/journal.pone.0030034]
- 83 Bak Y, Kwon T, Bak IS, Hong J, Yu DY, Yoon DY. IL-32θ inhibits stemness and epithelial-mesenchymal transition of cancer stem cells via the STAT3 pathway in colon cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 7307-7317 [PMID: 26824417 DOI: 10.18632/oncotarget.7007]
- 84 Aggarwal A, Prinz-Wohlgenannt M, Gröschel C, Tennakoon S, Meshcheryakova A, Chang W, Brown EM, Mechtcheriakova D, Kállay E. The calcium-sensing receptor suppresses epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell-like phenotype in the colon. *Mol Cancer* 2015; 14: 61 [PMID: 25879211 DOI: 10.1186/s12943-015-0330-4]
- 85 Fang Y, Gu X, Li Z, Xiang J, Chen Z. miR-449b inhibits the proliferation of SW1116 colon cancer stem cells through downregulation of CCND1 and E2F3 expression. *Oncol Rep* 2013; 30: 399-406 [PMID: 23674142 DOI: 10.3892/or.2013.2465]
- 86 Yu XF, Zou J, Bao ZJ, Dong J. miR-93 suppresses proliferation and colony formation of human colon cancer stem cells. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4711-4717 [PMID: 22180714 DOI: 10.3748/wjg.v17.i42.4711]
- 87 Xiao ZG, Deng ZS, Zhang YD, Zhang Y, Huang ZC. Clinical significance of microRNA-93 downregulation in human colon cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 296-301 [PMID: 23354160 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32835c077a]
- 88 Vermeulen L, Morrissey E, van der Heijden M, Nicholson AM, Sottoriva A, Buczacchi S, Kemp R, Tavaré S, Winton DJ. Defining stem cell dynamics in models of intestinal tumor initiation. *Science* 2013; 342: 995-998 [PMID: 24264992 DOI: 10.1126/science.1243148]
- 89 Vermeulen L, De Sousa E Melo F, van der Heijden M, Cameron K, de Jong JH, Borovski T, Tuynman JB, Todaro M, Merz C, Rodermond H, Sprick MR, Kemper K, Richel DJ, Stassi G, Medema JP. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 468-476 [PMID: 20418870 DOI: 10.1038/ncb2048]
- 90 Fatrai S, van Schelven SJ, Ubink I, Govaert KM, Raats D, Koster J, Verheem A, Borel Rinkes IH, Kranenburg O. Maintenance of Clonogenic KIT(+) Human Colon Tumor Cells Requires Secretion of Stem Cell Factor by Differentiated Tumor Cells. *Gastroenterology* 2015; 149: 692-704 [PMID: 25962936 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.05.003]
- 91 Li L, Neaves WB. Normal stem cells and cancer stem cells: the niche matters. *Cancer Res* 2006; 66: 4553-4557 [PMID: 16651403 DOI: 10.1158/0008-5472.can-05-3986]
- 92 Todaro M, Alea MP, Di Stefano AB, Cammareri P, Vermeulen L, Iovino F, Tripodo C, Russo A, Gulotta G, Medema JP, Stassi G. Colon cancer stem cells dictate tumor growth and resist cell death by production of interleukin-4. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 389-402 [PMID: 18371377 DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.001]
- 93 Lombardo Y, Scopelliti A, Cammareri P, Todaro M, Iovino F, Ricci-Vitiani L, Gulotta G, Dieli F, de Maria R, Stassi G. Bone morphogenetic protein 4 induces differentiation of colorectal cancer stem cells and increases their response to chemotherapy in mice. *Gastroenterology* 2011; 140: 297-309 [PMID: 20951698 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.005]
- 94 Ju SY, Huang CY, Huang WC, Su Y. Identification of thiostrepton as a novel therapeutic agent that targets human colon cancer stem cells. *Cell Death Dis* 2015; 6: e1801 [PMID: 26136074 DOI: 10.1038/cddis.2015.155]

编辑: 于明茜 电编: 胡珊





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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

