

肺癌干细胞标志物研究现状

王耀烺, 张培彤

(中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

摘要: 肿瘤干细胞是近年肿瘤领域研究热点, 其理论的提出为肿瘤的治疗提供了新的思路及靶点。肺癌是当今社会威胁人类健康的主要恶性肿瘤, 深入研究肺癌干细胞有望提高其治疗有效率。而肺癌干细胞的识别是其研究的第一步, 找到行之有效的肺癌干细胞标志物十分必要。全文对目前肺癌干细胞标志物研究现状作一综述。

关键词: 肺癌干细胞, 标志物, 研究进展

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2015)08-0671-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2015.08.A010

The Progress of Lung Cancer Stem Cells Marker

WANG Yao-hang, ZHANG Pei-tong

(Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

Abstract: Cancer stem cells (CSCs) are the research focus of tumor areas in recent years, the theory of CSCs provides the new ideas and targets. Lung cancer is a major threat to human health in today's society, studying deeply of CSCs is expected to improve its efficiency. Identification of lung cancer stem cells is the first step in the research; therefore to find effective cancer stem cell markers of lung cancer stem cells is necessary. In this paper, the studies of lung cancer stem cells markers were summarized.

Key words: lung cancer; stem cells; marker; progress

肺癌是当今癌症死亡的最常见原因, 在过去的10年里, 肺癌的5年生存率仍保持在15%左右^[1], 其中耐药性的产生是影响患者生存率的主要原因之一。对这一现象深入研究发现肿瘤干细胞(CSCs)与肿瘤的发生、发展、转移及耐药性密切相关。对肿瘤干细胞深入研究有助于发现肿瘤治疗新靶点, 延长患者生存期。目前对CSCs的研究主要集中在乳腺癌、肠癌、脑胶质瘤等方面, 而其在肺癌方面的研究相对缓慢, 究其原因可能与缺乏可靠的肺癌干细胞标志物有关。因此, 对肺癌干细胞标志物的研究是研究肺癌干细胞及其治疗的前提。

1 干细胞发展史

早在19世纪中期, 人们就发现胚胎组织与肿

瘤的相似性, 并提出肿瘤起源于静止的胚胎残余组织的激活^[2]。20世纪80年代, 有研究^[3]发现, 肺癌中存在一小部分能够在软琼脂克隆实验中形成克隆的细胞群体, 其能够在免疫抑制小鼠体内形成与原发肿瘤相似的移植瘤。1994年, John Dick在急性髓系白血病患者外周血中发现CD34⁺CD38⁻的细胞具有无限增殖能力^[4], 将这些细胞移植到SCID裸鼠体内产生的细胞与患者最初的白血病细胞形态相同, 从而证实了急性髓性干细胞的存在。这是人类首次识别并分离的肿瘤干细胞株。相继亦从多发性骨髓瘤中分离出可在NON/SCID小鼠体内形成多发性骨髓瘤的肿瘤细胞^[5]。2003年第一次在实体瘤即从人乳腺组织中分离出乳腺癌干细胞。随后又陆续在胃癌、肝癌中分离出肿瘤干细胞。

干细胞是指一类具有自我更新能力和多向分化潜能的细胞群体。这些肿瘤细胞与干细胞具有很多相似之处: 具有自我更新、多相分化的能力^[6-8]; 存

收稿日期: 2014-08-11; 修回日期: 2014-10-19

基金项目: 国家自然科学基金(81173450)

通讯作者: 张培彤, E-mail: zhangpeitong@sohu.com

在相似的生长调控机制^[9];均具有端粒酶活性^[10];都能转移到各种不同的组织且有相似的归巢和转移途径^[11]。由于其具有干细胞相似的性能,因此称这些肿瘤细胞为肿瘤干细胞(CSCs)。美国癌症研究协会(AACR)将肿瘤干细胞定义为“肿瘤中具有自我更新能力并能产生异质性肿瘤细胞的细胞”^[12]。

关于肺癌干细胞的存在与否目前尚无相关报道。然而,间接证据提示肺癌存在肿瘤干细胞的可能,即动物实验已明确小鼠肺部存在干细胞样细胞^[14]。而对于肺癌干细胞的来源至今仍存在争论,有些学者认为这些“干细胞”来自于骨髓干细胞或胚胎干细胞,认为正常组织的生长与修复来源于组织内极少数具有自我更新特征的干细胞。上皮干细胞在经历数次分裂后分化为不同的细胞。正常的肺细胞经过数次分裂丢失抑癌基因,获得致癌基因。另外,亦有研究认为骨髓干细胞参与上皮细胞的损伤与修复,并且认为这些细胞在肺癌的发展中起到重要作用^[13-15]。此外,有些肺癌细胞的异质表型亦提示其可能来源于未分化细胞^[16]。

另一些学者则认为其源自支气管肺泡干细胞(BASCs)^[17]。2005年, Kim等^[17]采用荧光激活细胞分选(FACS)从支气管和肺泡导管交界处分离出一群细胞表面标志为 Sca-1⁺CD45⁺Pecam⁺CD34⁺的细胞,并命名为支气管肺泡干细胞(BASCs)。其可自我更新,可分化成其他类型的肺上皮细胞。BASCs在支气管、肺泡损伤和上皮细胞体内修复更新时发挥作用,当体内支气管和肺泡损伤时发生增殖;BASCs能够分化为终末细支气管上皮细胞(Clara细胞)、I型肺泡上皮细胞(AT I细胞)和II型肺泡上皮细胞(AT II细胞),表明其具有自我更新和多向分化潜能,故考虑肺腺癌的形成可能与BASCs有关,这为人肺癌干细胞的研究提供了重要依据。

2 肺癌干细胞标志物

目前肺癌干细胞尚缺乏广泛认可标志物,学者们参照其他肿瘤干细胞标志物,对肺癌干细胞标志物进行探索研究,发现CD133、CD166、ALDH1等在肺癌干细胞中表达较为广泛,可考虑将其作为筛选肺癌干细胞的标志物。

2.1 阳性标志物

2.1.1 CD133

人CD133蛋白与鼠prominin-1有约60%的同源性^[18],故也称人CD133为人prominin-1。CD133是一个5次跨膜糖蛋白,其分子量约为97 kD,由865个氨基酸组成,包括85个氨基酸N端胞外域、5个跨膜区、2个大的胞外环以及一个由50个氨基酸组成的胞内尾端。CD133首先在乳腺癌、脑胶质瘤、肝癌、结肠癌、前列腺癌等多种实体瘤中被证实,进一步研究发现其阳性表达亦与肺癌干细胞关系密切。

Eramo等^[19]通过无血清球培养获得的肺癌细胞同时表达CD133及Ep-CAM,表明肺癌中CD133⁺的肿瘤细胞与未分化的上皮细胞数量增多有关;其将1×10⁴个CD133⁺细胞接种到SCID小鼠皮下可形成转移瘤,其表型与原肿瘤一致,且具有高度的自我更新、繁殖能力;将未分化的CD133⁺细胞保存1年后继续接入SCID小鼠,其仍可形成与原肿瘤一致的原位瘤。因此Eramo等认为在SCLC、NSCLC中存在极少数的CD133⁺干细胞样细胞,其可导致肺癌的发生及转移。Chen等^[20]从10例非小细胞癌患者的组织样本和细胞系中得到的CD133⁺细胞和CD133⁻细胞,发现CD133⁺细胞有很强的自我更新能力、致癌性及耐药性。它们同时高水平地表达一种胚胎干细胞中的转录因子Oct-4。另外,CD133的表达亦与患者预后存在密切关系。对1004例NSCLC患者的meta分析显示高表达CD133患者其5年生存率显著低于低表达CD133患者,认为CD133的高表达是影响NSCLC患者预后的危险因素^[21]。

虽然诸多实验显示CD133⁺细胞在肺癌致癌性的临床及实验室研究中起到至关重要的作用,但CD133作为肺癌干细胞的标志物目前尚存争议,尤其是在NSCLC中。在对A549、H157、H226、Calu-1、H292、H446等细胞系的研究中发现,仅有H446 SCLC细胞系中富含CD133⁺;相反的,在其余的NSCLC细胞系中均未发现CD133⁺细胞存在^[22]。Hayashi等^[23]同样认为CD133⁺干细胞仅存在于SCLC中。此外,有些学者对CD133的表达与肺癌干细胞的关系提出质疑,认为CD133⁺细胞和CD133⁻细胞具有相似的形成癌细胞菌落能力、自我更新、增殖、分化、侵袭和耐药能力^[24];也有研究显示细胞角蛋白(CK⁺)、CD133⁺祖细胞存在于正常肺组织,在肺癌

组织中较少;而 CD177⁺CD44⁺细胞较多存在于肿瘤组织中^[25],提示 CD133 单独作为肺癌干细胞标志物并不可靠,仍需要进一步的研究证实。

2.1.2 CD166

活化白细胞黏附分子 (ALCAM) 又称为 CD166 和 MEMD,由免疫球蛋白基因表达在胸腺上皮细胞,活化的 B 和 T 细胞、单核细胞、骨髓等组织细胞均有表达,并参与其生长发育。而近期研究发现 CD166 表达水平的高低与黑色素瘤的侵袭和转移以及乳腺癌、前列腺癌、食管癌、结直肠癌等肿瘤患者的生存率及预后相关^[26]。

Zhang 等^[27]通过 FACS 检测肺癌组织中 CD166、CD133、CD44 的表达,发现在肿瘤起始细胞(TICs)细胞群中 CD166 的表达最多、最强。在全部 12 例肺腺癌患者组织样本中 CD166⁺Lin⁻细胞可在体内形成肿瘤;相反,CD166⁺Lin⁻细胞虽然表达 CEA,但在接种 8 个月后仍无肿瘤形成。相似的结果同样可在肺鳞癌及大细胞肺癌中观察到。在对肺腺癌样本检测中,我们发现 CD166 的表达量是多种多样的,但总的来说,其在肿瘤组织内的含量要高于肿瘤周围正常的肺组织,且 CD166⁺细胞在体内表现出自我更新及分化的能力,可形成原发瘤及转移瘤,应用免疫荧光及流式检测发现,其高表达 CD166 不表达 CD133。裸鼠成瘤实验显示 1~5 个 CD166⁺细胞即可在 NOD/SCID II2r^{-/-}体内形成肿瘤。基于以上研究结果,Zhang 等认为 CD166 可以作为 NSCLC 中 TICs 的标志物。但也有学者对此提出异议,Tachezy 等^[28]在对 1910 例 NSCLC 患者的肿瘤组织进行研究发现,CD166 的表达与肿瘤大小、淋巴结转移个数呈负相关,与临床分期、预后等无明显关系,该研究结果的提出使上述观点受到质疑。

2.1.3 ALDH1

乙醛脱氢酶 1 (ALDH1) 是乙醛脱氢酶家族之一,是催化细胞内乙醛氧化为乙酸的细胞溶质酶。通过氧化视黄醇为视黄酸参与基因的表达和组织的分化。近年来有研究发现,ALDH1 可作为肿瘤干细胞的功能性标志物^[29]。

有研究利用流式细胞分选技术分离出 ALDH1⁺细胞可在无血清的培养基中形成细胞球,平板克隆形成实验、MTT 检测实验及 Transwell 实验提示 ALDH1⁺细胞较 ALDH1⁻及对照组细胞具有较强的自

我更新、自我增殖和转移侵袭能力,将 1×10⁴ 个 ALDH1⁺细胞接入裸鼠体内可形成原位瘤^[30]。进一步研究显示^[31],从非小细胞肺癌细胞系中分离出的 ALDH1⁺细胞高表达 CD133⁺;相反,仅有 1.2% 的 ALDH1⁻表达 CD133⁺。其在体外实验中具有自我增殖、自我更新、分化和耐药能力,可在体内分化为癌细胞群。此外,该研究认为 ALDH1⁺细胞与早期 NSCLC 患者的预后有关。NSCLC 术后 ALDH1⁺患者的 5 年生存率为 32%,ALDH1⁻患者的 5 年生存率为 72%,具有显著性差异。

2.1.4 Oct-4

Oct-4 也称 OCT3,含 352 个氨基酸,相对分子量 18kD,属于 POU 转录因子家族一员,是胚胎干细胞的标志物^[32]。Chen 等^[33]分离出的 LC-CD133⁺细胞同时表达 Oct-4。进一步研究发现,同时表达 CD133⁺和 Oct-4⁺细胞在自我更新、干细胞基因表达方面明显优于 CD133⁺细胞。利用小干扰 RNA(siRNA)敲除 Oct-4 的表达后,LC-CD133⁺细胞失去成球能力而分化成贴壁的上皮样细胞,体外实验提示 LC-CD133⁺Oct-4⁻细胞较 LC-CD133⁺Oct-4⁺细胞在侵袭和克隆形成能力方面下降明显。针对 siRNA 的治疗,可使 LC-CD133⁺细胞恢复成球能力。流式细胞检测显示 Oct-4 表达阻断可导致 LC-CD133⁺细胞减少,LC-CD133⁺细胞百分比上升;免疫荧光结果证实 siRNA 能同时阻断 Oct-4 和 CD133 的表达,认为 LC-CD133⁺细胞中的 Oct-4 的表达在维持干细胞性能、抑制分化方面起到重要作用。

2.1.5 SP

SP 细胞可特异性地将 Hoechst33342 染料快速泵出细胞外,它广泛分布在正常组织、肿瘤和细胞系中,多被用于干细胞的表型标记。

Ho 等^[34]通过流式细胞术分别从不同的肺癌细胞系分离出的 SP,将其接种到非肥胖型糖尿病/重症联合免疫缺陷小鼠身上,结果显示 SP 细胞具有明显的致瘤及转移能力,同时高表达 ATP 结合转运蛋白 2(ABCG2)、端粒酶逆转录酶,低表达微小染色体维持蛋白 7(MCM7)。

ABCG2 属于 ABC 转运蛋白家族成员之一,被认为是 SP 细胞的表型,一种潜在的干细胞分子标志,其与肿瘤细胞的多重耐药有关。目前已发现部分肿瘤干细胞的标志中包含 ABCG2/Bcrp1,并且有些

研究直接运用 ABCG2/Bcrp1 作为干细胞或肿瘤干细胞的标志物^[35-37]。Roudi 等^[38]在研究 A549 细胞系中可能的干细胞标志物时,发现 ABCG2⁺细胞所占的比例为 0.93%,与 CD133⁺细胞所占比例相近,提示其可作为干细胞标志物的可能性。近期研究也证明^[39],ABCG2 可调节成熟干细胞的对称及非对称分裂之间的转换。然而,亦有学者^[40]认为 ABCG2 单独不适合作为肺癌干细胞的标志物。

端粒酶是细胞中负责端粒延长的一种酶,是基本的核蛋白逆转录酶,可将端粒 DNA 加至真核细胞染色体末端。端粒酶在细胞中的主要生物学功能是通过其逆转录酶活性复制和延长端粒 DNA 来稳定染色体端粒 DNA 的长度。成人正常体细胞无端粒酶活性,而在 85%~90%的恶性肿瘤存在有端粒酶活性,其存在提示其肿瘤细胞无限增殖的能力。MCM 是真核生物 DNA 复制的主要调控因子,MCM7 在 SP 细胞中明显减少,提示 SP 细胞中大部分细胞处于 DNA 不复制的静止期即 G₀ 期。以上这些发现均证明 SP 细胞富含具有干细胞特质的肿瘤起始细胞。

2.1.6 CD44

CD44 抗原是一条糖基化的跨膜多肽链,接受细胞外基质糖基化、透明质酸化信息的受体,主要参与异质性粘附,即肿瘤细胞与宿主细胞和宿主基质的粘附,异质性粘附在肿瘤细胞侵袭转移中起促进作用。

有研究在研究潜在的干细胞标志物时发现,在 177 例 I 期肺腺癌的患者中 CD133、CD44、ALDH1 的高表达是肺腺癌复发的高危因素,提示其潜在的肺癌干细胞源性^[41]。Roudi 等^[37]在研究 A549 细胞系中干细胞标志物的过程中发现,CD44⁺、CD24⁺细胞所占比例分别为 68.16%、54.46%,而以 ALDH1、ABCG2、CD133 为标志的细胞所占比例分别为 4.20%、0.93%、0.93%。同时 CD44(+)/24(+)和 CD44(+)/CD24(-/low)细胞亚群比例分别为 64%、27.92%,认为 CD24、CD44 不能作为分离 A549 细胞系干细胞的标志物。

2.1.7 其他

随着对肺癌干细胞标志物的深入研究,发现有一些标志物虽然应用并不广泛,但在 CSCs 研究方面提供了新思路。

在肺腺癌中 EpCAM 的表达明显高于腺鳞癌及鳞癌^[42]。有学者在研究 EpCAM 与临床病理及预后的关系中发现^[43],EpCAM 在肺腺癌中高表达,在 BAC (支气管肺泡癌)中处于低表达水平,认为 EpCAM 可能在肺腺癌的发生发展中起重要作用。柯萨奇腺病毒受体 (CAR) 在体内外实验中均可检测到其表达,高表达 CAR 的细胞比其亲代具有更显著的耐药性,自我更新能力及致瘤性。敲除调节 CAR 表达的 RNA,其自我更新等能力明显受到抑制^[44]。CAR 首次作为 NSCLC 中 CSC 标志物的提出,为其在 NSCLC 中对 CSC 的治疗及改善患者耐药性方面提供了新思路。

2.2 阴性标志物

2.2.1 CD24

CD24 是一种相对分子质量较小、热稳定性强、高度糖基化的细胞表面粘附分子。CD24 在多种恶性肿瘤细胞表面呈高表达,并且可以促进肿瘤细胞的迁移能力,但在肿瘤干细胞表面呈阴性表达或低表达^[45]。

2.2.2 CD45

CD45 是一种单链跨膜糖蛋白,属于蛋白酪氨酸磷酸酶(PTPase)家族,是造血系细胞所共有的表面标志物,又称为白细胞共同抗原。Eramo 等^[20]研究发现人类肺癌干细胞和小鼠支气管肺泡干细胞有许多共同的表型特征:CD34、Bcrp1、Oct-4 均呈阳性,CD45 均呈阴性。CD45 在肺癌干细胞、肝癌干细胞、结肠癌干细胞表面均为阴性。

3 讨论

虽然目前肿瘤干细胞的理论得到大部分学者认可,但仍有学者对肿瘤干细胞的存在提出质疑。Priscilla 等^[46]将从 3 个不同的早期淋巴瘤 Eμ-Myc 转基因小鼠中提取出来的淋巴瘤细胞以 10~10⁵ 不同浓度注射到同类系小鼠中,结果显示所有的受试小鼠均在 35d 之内发生恶性淋巴瘤,注射细胞数量与肿瘤负荷、疾病严重程度无明显关系。且注射的淋巴瘤细胞仅有一小部分(2%~5%)表达干细胞标志物(Sca-1、AA4.1)。认为至少某些恶性肿瘤的生长是靠大量(>10%)甚至大部分细胞来维持的观点与肿瘤的生长是靠极少量的肿瘤干细胞维持的理论相矛盾。

即使在认可肿瘤干细胞理论的学者中,对于是否可以找到可以完全代表肺癌干细胞的标志物亦存在不同声音。Moreira 等^[47]认为肺癌不同的组织类型、不同的分化程度其表达的干细胞标志物不同。虽然当前肺癌干细胞的研究中 CD133 充当着十分重要的角色,但是 CD133 作为肺癌干细胞标志物仍存在诸多的疑问和未知,其影响因素较多且较为复杂,甚至可能很多影响因素还未被意识到。CD133 更倾向于作为耐药的指标而非肺癌干细胞标志;Oct-4 有望成为肺腺癌干细胞的标志;ALDH1 是多种肿瘤干细胞的通用标志物,其特异性有待进一步研究^[49]。因此,目前多种实体肿瘤已联合应用多个标志物来鉴定提纯肿瘤干细胞,这在当前的肺癌干细胞研究中亦不失为一种尝试。当然,寻找特异性的肺癌干细胞标志物和基因表达谱仍是今后努力的方向,并期望由此给临床肺癌的诊断和治疗开创新的局面。

参考文献:

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Shmelkov SV, St Clair R, Lyden D, et al. AC133/CD133/Prominin-1[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2005, 37(4): 715-719.
- [3] Carney DN, Gazdar AF, Bunn PA Jr, et al. Demonstration of the stem cell nature of clonogenic tumor cells from lung cancer patients[J]. Stem Cells, 1982, 1(3): 149-164.
- [4] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukemia after transplantation into SCID mice[J]. Nature, 1994, 367 (6464): 645-648.
- [5] Matsui W, Huf CA, Wang Q, et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells[J]. Blood, 2004, 103(6): 2332-2336.
- [6] Rahman M, Deleyrolle L, Vedam-Mai V, Azari H, et al. The cancer stem cell hypothesis: failures and pitfalls [J]. Neurosurgery, 2011, 68(2): 531-545.
- [7] Tysnes BB, Bjerkvig R. Cancer initiation and progression: involvement of stem cells and the microenvironment, BBA-Rev [J]. Cancer, 2007, 1775(2): 283-297.
- [8] Guo W, Lasky JL, 3rd, Wu H. Cancer stem cells[J]. Pediatr Res, 2006, 59(4 Pt 2): 59R-64R.
- [9] Jordan CT. Cancer stem cell biology: from leukemia to solid tumors [J]. Curr Opin Cell Biol, 2004, 16(6): 708-712.
- [10] Pathak S. Organ-and tissue-specific stem cells and carcinogenesis[J]. Anti-cancer Res, 2002, 22(3): 1353-1356.
- [11] Zheng J. Cellular and molecular biology cancer [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2011. 150-167. [郑杰. 肿瘤的细胞和分子生物学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2011. 150-167.]
- [12] Girouard SD, Murphy GF. Melanoma stem cells: not rare, but well done [J]. Lab Invest, 2011, 91(5): 647-664.
- [13] Paguirigan A, Beebe DJ, Liu B, et al. Mammary stem and progenitor cells: tumor precursors? [J]. Eur J Cancer, 2006, 42(9): 1225-1226.
- [14] Mackenzie IC. Stem cell properties and epithelial malignancies [J]. Eur J Cancer, 2006, 42(9): 1204-1212.
- [15] Haura E. Is repetitive wounding and bone marrow-derived stem cell mediated-repair an etiology of lung cancer development and dissemination? [J]. Med Hypotheses, 2006, 67(4): 951-956.
- [16] Berns A. Stem cells for lung cancer? [J]. Cell, 2005, 121(6): 811-813.
- [17] Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer [J]. Cell, 2005, 121(6): 823-835.
- [18] Weigmann A, Corbeil D, Hellwig A, et al. Prominin, a novel microvillus-specific polytypic membrane protein of the apical surface of epithelial cells, is targeted to plasmalemmal protrusions of non-epithelial cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(23): 12425-12430.
- [19] Eramo A, Lotti F, Sette G, et al. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population [J]. Cell Death Differ, 2008, 15(3): 504-514.
- [20] Chen YC, Hsu HS, Chen YW, et al. Oct-4 expression maintained cancer stem-like properties in lung cancer-derived CD133-positive cells [J]. PLoS One, 2008, 3 (7): e2637.
- [21] Hongying Qu, Rong Li, Zhiyue Liu, Junyi Zhang, Rongcheng Luo. Prognostic value of cancer stem cell marker CD133 expression in non-small cell lung cancer: a systematic review [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(11): 2644-2650.
- [22] Cui F, Wang J, Chen D, et al. CD133 is a temporary marker of cancer stem cells in small cell lung cancer, but not in non-small cell lung cancer [J]. Oncol Rep, 2011, 25 (3): 701-708.
- [23] Hayashi T, Tao H, Jida M, et al. Expression of CD133, a possible marker for cancer stem cells, in small cell lung cancer cell lines and non-small cell lung cancer cell lines [J]. J Clin Oncol, 2009, 25(3): 701-708.
- [24] Meng X, Li M, Wang X, et al. Both CD133+ and CD133- subpopulation of A549 and H466 cells contain cancer initiating cells [J]. Cancer Sci, 2009, 100(6): 1040-1046.

- [25] Normolle DP,Donnenberg VS,Donnenberg AD. Statistical classification of multivariate flow cytometry data analyzed by manual gating:stem,progenitor,and epithelial marker expression in nonsmall cell lung cancer and normal lung[J]. Cytometry A,2013,83(1):150–160.
- [26] Zhuang JL,Pan QX,Su ZJ, et al. CD24,ALCAM expression in colorectal cancer and its clinical significance[J]. Journal of Pathology and Clinical Medicine,2007,(5): 382–387.[庄建良,潘群雄,苏子剑,等. CD24,ALCAM 在结直肠癌的表达及其临床意义[J]. 国际病理科学与临床杂志,2007,27(5):382–387.]
- [27] Zhang WC,Shyh-Chang N,Yang H,et al.Glycine decarboxylase activity drives non-small cell lung cancer tumor-initiating cells and tumorigenesis[J].Cell,2012,148(1–2): 259–272.
- [28] Tachezy M,Zander H,Wolters-Eisfeld G,et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule(CD166);an “Inert” cancer stem cell marker for non-small cell lung cancer? [J]. Stem Cells,2014,32(6):1429–1436.
- [29] Ginestier C,Hu MH,Charafe-jauffret E,et al.ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome[J]. Cell Stem Cell,2007,1(5):555–567.
- [30] Zou AM.ALDH1 may be lung cancer stem cells functional marker[D].Guangzhou:Southern Medical University,2011. [邹爱梅.ALDH1 可能作为肺癌干细胞的功能性标志物 [D].广州:南方医科大学,2011.]
- [31] Jiang F,Qiu Q,Khanna A,et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell-associated marker in lung cancer[J]. Mol Cancer Res,2009,7(3):330–338.
- [32] Burdon T,Smith A,Savatier P. Signalling,cell cycle and pluripotency in embryonic stem cells [J].Trends Cell Biol, 2002,12(9):432–438.
- [33] Chen YC,Hsu HS,Chen YW,et al.Oct-4 expression maintained cancer stem-like properties in lung cancer-derived CD133-positive cells[J].PLoS One,2008,9(3):e2637.
- [34] Ho MM,Ng AV,Lam S,et al. Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells[J].Cancer Res,2007,67(10):4827–4833.
- [35] Seigel GM,Campbell LM,Narayan M,et al.Cancer stem cell characteristic in retinoblastoma [J].Mol Vis,2005,12 (11):729.
- [36] Wang J,Guo LP,Chen LZ,et al. Identification of cancer stem cell-like side population cells in human nasopharyngeal carcinoma cell line [J].Cancer Res,2007,67 (8):3716–3724.
- [37] Ding Q,Jia XS.5-Fu induced positioning process of stem cell tracheal injury repair in rats[J]. Acta Anatomica Sinica, 2004,35(3):328.[丁强,贾心善.氟尿嘧啶引起大鼠气管损伤修复过程中干细胞的定位 [J]. 解剖学报,2004,35 (3):328.]
- [38] Roudi R,Madjd Z,Ebrahimi M,et al. CD44 and CD24 cannot act as cancer stem cell markers in human lung adenocarcinoma cell line A549 [J].Cell Mol Biol Lett, 2014,19(1):23–36.
- [39] Tang Y,Hou J,Li G,et al.ABCG2 regulates the pattern of self-renewing divisions in cisplatin-resistant non-small cell lung cancer cell lines[J].Oncol Rep,2014,32(5):2168–2174.
- [40] Niu HY,Sheng H. Discussion on ABCG2 as lung cancer stem cell marker [J]. Journal of Mathematical Medicine, 2008,21(2):145–148.[牛海艳,申洪. ABCG2 作为肺癌干细胞标志的意义探讨 [J]. 数理医药学杂志,2008,21(2): 145–148.]
- [41] Okudela K,Woo T,Mitsui H,et al. Expression of the potential cancer stem cell markers,CD133,CD44,ALDH1, and β -catenin,in primary lung adenocarcinoma—their prognostic significance[J].Pathol Int,2012,62(12):792–801.
- [42] Went P,Vasei M,Bubendorf L,et al. Frequent high-level expression of the immunotherapeutic target Ep-CAM in colon,stomach,prostate and lung cancers [J].Br J Cancer, 2006,94(1):128–135.
- [43] Kim Y,Kim HS,Cui ZY,et al.Clinicopathological implications of EpCAM expression in adenocarcinoma of the lung[J].Anticancer Res,2009,29(5):1817–1822.
- [44] Zhang X,Fang B,Mohan R,et al. Coxsackie-adenovirus receptor as a novel marker of stem cells in treatment-resistant non-small cell lung cancer [J].Radiother Oncol, 2012,105(2):250–257.
- [45] Zhang K,Jiang C,Wang P.Lung cancer stem cells [J]. Chemistry of Life,2013,33 (4):433–437.[张凯,姜丛,王平. 肺癌干细胞[J].生命的化学,2013,33(4):433–437.]
- [46] Kelly PN,Dakic A,Adams JM,et al. Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells [J].Science, 2007,20:317–337.
- [47] Moreira AL,Gonen M,Rekhtman N,et al. Progenitor stem cell marker expression by pulmonary carcinomas[J].Mod Pathol,2010,(23):889–895.
- [48] Liang HX,Zhong H,Huang Y,et al.Progress in non-small lung cancer stem cells [J]. Journal of Modern Oncology, 2013,21(7):1659–1661.[梁洪享,钟竑,黄燕,等.非小细胞肺癌肿瘤干细胞标记物的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学,2013,21(7):1659–1661.]