

乙醛脱氢酶在肿瘤干细胞鉴定中的作用

褚玉新, 胡钦勇, 宋启斌

(武汉大学人民医院肿瘤中心, 湖北 武汉 430060)

摘要: 肿瘤干细胞被认为是肿瘤复发和转移的根源, 其鉴定尤为重要。当前肿瘤干细胞鉴定的主要方法有利用干细胞表面标志鉴定、细胞增殖和分化能力的鉴定、动物体内致瘤性鉴定、化疗耐药性的鉴定、放疗抵抗性的鉴定等。乙醛脱氢酶是细胞质中调节乙醛代谢的一种重要酶类, 其在肿瘤干细胞中显示出很高的活性, 可作为肿瘤干细胞鉴定的标志物。研究乙醛脱氢酶在肿瘤干细胞鉴定中的作用将有利于肿瘤的诊断、治疗和预后评估。

关键词: 乙醛脱氢酶; 肿瘤干细胞; 鉴定

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2017)11-1022-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.11.B018

The Role of Aldehyde Dehydrogenase in Characterization of Cancer Stem Cells

CHU Yu-xin, HU Qin-yong, SONG Qi-bin

(Cancer center, Renmin hospital of Wuhan university, Wuhan 430060, China)

Abstract: Cancer stem cells (CSC) are responsible for the relapse and metastasis of cancers, so the characterization of CSC is very important. Current methods for characterizing CSC include cellular biomarker-based characterization, cell proliferation and differentiation characterization, tumorigenesis in vivo, chemo-resistance and radio-resistance characterization. Aldehyde dehydrogenase (ALDH) is an important cytosolic enzyme which regulates aldehyde metabolism. ALDH is highly active in CSC and has been regarded as a biomarker for characterization of CSC. Studying the role of ALDH in characterization of CSC will benefit the diagnosis, treatment, and prognosis evaluation of cancers.

Subject words: aldehyde dehydrogenase; cancer stem cell; characterization

肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)理论认为, 肿瘤组织中存在着一小群干细胞或者祖细胞, 能够自我更新、生长并且产生异质性肿瘤细胞, 维持着肿瘤的发生、发展和转移^[1]。肿瘤组织中大部分是缺乏自我更新能力的已分化细胞, 其增殖能力有限, 不具有很强的致瘤性。传统的手术及放化疗主要杀灭这些已分化的肿瘤细胞, 而对残留的 CSC 难以清除, 不能实现持久的疗效, 是导致肿瘤复发和转移的根源^[2]。因此, 当前肿瘤治疗的热点不再仅仅着眼于减少肿瘤负荷, 还要研究如何有效地靶向清除 CSC。

在 CSC 的研究过程中, 通常需要一些细胞表面标记来识别或鉴定 CSC。乙醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH) 是一类广泛分布于不同组织的

细胞浆中, 催化视黄醇氧化为视黄酸的酶类, 具有很强的氧化性^[3]。ALDH 在干细胞分化的早期参与基因表达和组织分化的调控, 对于干细胞的正常发育, 生长维持和分化至关重要。ALDH 在多种肿瘤组织中高表达, 可作为肿瘤干细胞鉴定的标志物^[4]。高度表达 ALDH 的肿瘤干细胞与肿瘤的发生、复发、转移和耐药性密切相关。越来越多的证据显示, ALDH 表达水平随治疗强度而增加, 导致肿瘤干细胞耐受放化疗, 存活力增加^[5]。因此, 以 ALDH 为标志从肿瘤组织中分离鉴定出具有自我更新能力和高致瘤特性的肿瘤干细胞将为靶向杀灭和消除肿瘤提供新的思路。

1 乙醛脱氢酶

乙醛脱氢酶(ALDH)是一种位于细胞浆中的四

基金项目: 国家自然科学基金资助(81372407, 81670123)

通讯作者: 宋启斌, 主任医师, 博士; 武汉大学人民医院肿瘤中心, 湖北省武汉市武昌区张之洞路 9 号(430060); E-mail: qibinsong@163.com

收稿日期: 2017-04-05; **修回日期:** 2017-05-12

联体蛋白,催化醛类的氧化为酸,主要有4种同工酶ALDH1-ALDH4。编码ALDH的基因位于9号染色体,长度为53000bp,包含13个外显子,可编码含501个氨基酸残基的多肽^[6]。ALDH基因家族包括近20组ALDH基因,每组中又有不同的次家族,这些基因参与多种生物代谢,包括胆固醇、其他脂肪酸以及氨基酸代谢^[7]。在肝脏中ALDH1的主要功能是将视黄醇维生素A氧化为视黄酸,在造血干细胞中ALDH1也发挥相似的功能。此外,ALDH还参与体内有毒物质的降解,如人体口服的乙醇以及细胞代谢产生的毒素的降解。

ALDH在干细胞调节中发挥作用,参与细胞信号转导,保护细胞免受活性氧类物质(reactive oxygen species,ROS)的损伤,ALDH依赖的RA信号通路参与基因表达和形态发生,对于机体的正常发育至关重要^[8]。ALDH在多种不同肿瘤中发挥重要作用,被认为是肿瘤干细胞鉴定的功能性标志,引起了人们的极大关注。已有学者利用ALDH为细胞标志物从前列腺癌、乳腺癌、肝癌和肺癌中成功分离和鉴定了CSC^[9]。

肿瘤细胞内ALDH的活性与其增殖能力,致癌潜能,化疗耐药,放疗抵抗等密切相关^[10]。ALDH^{high}肿瘤干细胞与肿瘤的进展和患者的临床预后有着紧密关系^[11]。因此,以ALDH为标记分离和鉴定CSC为肿瘤患者靶向清除CSC带来了新的希望。

2 ALDH可作为肿瘤干细胞鉴定的标志物

ALDH1最早被用来分选鉴定白血病干细胞。随着实体肿瘤中CSC研究的增多,ALDH1被广泛用于实体肿瘤CSC的分选和鉴定,目前已成功在白血病、乳腺癌、肺癌、头颈肿瘤、膀胱癌、肝癌、胰腺癌等肿瘤细胞中分选出了ALDH1⁺的CSC^[12]。当前以ALDH为标志物从实体瘤中分离和鉴定CSC常用的方法是ALDEFLUOR试剂染色,然后利用流式细胞仪分选出ALDH^{high}肿瘤干细胞和ALDH^{low}非肿瘤干细胞。此方法的原理是基于ALDH在所有活的原始细胞中高表达,可以将ALDH的底物-BAAA (Bodipy TM-aminoacetaldehyde)转化为荧光产物BAA (Bodipy TM-aminoacetate),ALDH高表达的细胞呈现

明亮的荧光。而对照组细胞因加入了ALDH抑制剂-二乙基氨基偶氮苯(N,N-diethylaminoazobenzene, DEAB),不能形成荧光产物BAA,无明亮的荧光。经流式细胞仪分选带荧光的ALDH^{high}细胞^[13]。由于完整的细胞膜可以保留ALDEFLUOR的反应产物,ALDH^{high}肿瘤干细胞可以被鉴定。ALDH^{high}的细胞包括CD34⁺细胞、CD133⁺细胞、Kit⁺细胞、Lin⁻细胞、集落形成细胞、长期培养的起始细胞以及NOD/SCID亚群细胞^[14]。只有具有完整细胞膜的细胞才可以保留ALDEFLUOR的反应产物。因此,ALDEFLUOR只鉴定活的ALDH细胞。目前美国Stem Cell公司已经开发出了专门用于CSC分选和鉴定的ALDEFLUOR试剂盒,不需要联合多个分子标记就可以从多种肿瘤中分选CSC,使CSC的鉴定变得简单易行。

3 肿瘤干细胞增殖及分化能力的鉴定

肿瘤干细胞具有自我更新、无限增殖能力以及多向分化潜能,而普通肿瘤细胞不具有以上特性。利用其较强增殖能力可以通过对肿瘤细胞进行传代培养,普通肿瘤细胞便逐渐自行消亡,能进行传代培养的则是干细胞;在分化方面,利用肿瘤干细胞分化时其表面标志的改变,通过检测这些细胞表面标志可以达到对干细胞进行鉴定的目的^[15]。最近有学者^[16]利用Aldefluor/ALDH染色和流式细胞仪分选,从小鼠Lewis细胞株(LLC细胞)中分离和鉴定了ALDH⁺肿瘤干细胞。为了鉴定ALDH⁺细胞的自我更新能力,他们将细胞培养了8d,结果发现ALDH⁺细胞既可以产生ALDH⁺细胞,也可以产生ALDH⁻细胞。相比之下,ALDH⁻细胞不能产生ALDH⁺细胞。这说明只有ALDH⁺细胞能够再生CSC。为了研究LLC细胞中ALDH⁺细胞和ALDH⁻细胞克隆形成能力的差异,他们将细胞以500个/孔接种到低黏附性的六孔板,培养10d。结果发现,ALDH⁺细胞形成的克隆数目明显多于ALDH⁻细胞,同时也发现ALDH⁺细胞的成球能力明显强于ALDH⁻细胞。这说明ALDH⁺的CSC的增殖分化能力更强,启动肿瘤发生的能力也明显高于ALDH⁻非肿瘤干细胞^[16]。ALDH不仅是CSC鉴定的标志物,还在CSC的自我更新、增殖、分化中发挥重要作用。当使用合成的特异性抑制剂,反义寡核苷酸,或siRNA直接抑制ALDH的作用后,CSC的增

殖显著性减少。相反,活化 ALDH3A1 之后能够明显刺激 CSC 的增殖,且不受以上抑制剂的影响^[17]。因此,ALDH 在 CSC 增殖和分化能力的鉴定中具有重要意义。

4 肿瘤干细胞体内致瘤能力鉴定

从肿瘤组织或细胞系中分离出的 CSC 制备成细胞悬液后种植到异种动物体内,如 NOD/SCID 小鼠体内,观察是否形成肿瘤,比较肿瘤病灶在组织结构上与原发肿瘤病灶的相似性。从形成的肿瘤病灶中提取肿瘤干细胞,再次种植到异种动物体内后仍可以形成肿瘤病灶,这种连续移植的异种动物体内致瘤能力说明 CSC 具有稳定的自我更新能力和致瘤能力,从而可以进一步鉴定 CSC 在体内的致瘤性^[18]。肿瘤干细胞在异种移植的动物体内连续成瘤实验是鉴定肿瘤干细胞最为可靠的方法^[18]。在小鼠模型中,ALDH⁺乳腺癌细胞的成瘤性比 ALDH⁻细胞至少强 100 倍^[19]。为了比较 ALDH⁺和 ALDH⁻的 LLC 细胞在动物体内致瘤能力的差异,Larzabal 等^[16]在 NSG 小鼠皮下接种 1000 或 5000 个肿瘤细胞。3 周之后,发现接种 ALDH⁺细胞的 4 只小鼠中有 3 只出现肿瘤生长,而接种 ALDH⁻细胞的小鼠都没有出现肿瘤生长。接种 5000 个 ALDH⁺细胞的小鼠平均肿瘤体积为 $235.3 \pm 64.6 \text{ mm}^3$,而接种 5000 个 ALDH⁻细胞的小鼠肿瘤体积很小,只有 $27.45 \pm 5.47 \text{ mm}^3$ 。在头颈部鳞状细胞癌中也发现 ALDH⁺细胞在小鼠体内具有高度的致瘤能力,即使少至 500 个 ALDH⁺细胞也能在 24/25 的小鼠体内形成肿瘤,而相同数量的 ALDH⁻细胞接种后,只有 3/37 的小鼠有肿瘤的形成^[20]。以上研究说明,在多种肿瘤中 ALDH⁺细胞代表了一群高致瘤潜能的细胞,是鉴定肿瘤干细胞可靠的标志。

5 ALDH 在肿瘤干细胞化疗耐药中的作用

ALDH 除了作为一种细胞表面标记,其在肿瘤干细胞的化疗耐药机制中也发挥重要作用。肿瘤细胞对环磷酰胺和顺铂等抗癌药物的耐药与肿瘤干细胞高表达 ALDH 密切相关^[21]。因此,检测细胞中 ALDH 的水平还可以预测肿瘤对化学疗法的敏感

性。CSC 对化疗耐药导致肿瘤患者的化疗疗效欠佳。CSC 耐受化疗的主要机制是 CSC 通过 ABC 转运蛋白将药物排出细胞外。ABCB1 和 ABCG2 是导致 CSC 化疗耐药的两种主要蛋白。最近的研究显示,ALDH 也参与 CSC 化疗耐药。ABC 转运体和 ALDH 酶的在 CSC 中高表达。现有的化疗方案主要杀灭非肿瘤干细胞,而对高表达 ALDH 的 CSC 无效。这说明靶向清除耐药的 CSC 迫在眉睫^[22]。也有研究显示,高表达 ALDH3A1 的肿瘤细胞在体外培养的环境中对环磷酰胺的耐受性增加,靶向抑制 ALDH3A1 活性的药物 CB29 可以恢复肿瘤细胞对化疗的敏感性^[23]。多种化疗耐受的肿瘤细胞中过表达 ALDH。2009 年 Tanei 等^[24]研究了乳腺癌患者在接受新辅助化疗之前以及之后,对乳腺癌组织免疫组化染色,发现 ALDH 表达水平很高的肿瘤细胞对化疗的反应性极差。而且,ALDH 的表达水平在化疗后明显增加。2012 年 Croker AK 等^[25]研究了从 MDA-MB-231 和 MDA-MB-468 乳腺癌细胞系中分选出的过表达 ALDH 的肿瘤细胞,发现 ALDH⁺的肿瘤细胞对阿霉素和紫杉醇的耐药性显著性高于 ALDH⁻的细胞。Januchowski R 等^[26]发现过表达 ALDH1A1 的卵巢癌细胞对化疗耐受,这群细胞同时也高表达 ABC 转运蛋白,特异性的 ALDH1A1 抑制剂能够增加卵巢癌对化疗的敏感性。这些结果说明 ALDH 可能与 CSC 化疗耐药相关。

6 ALDH 在肿瘤干细胞放疗抵抗中的作用

通过多次照射后,普通肿瘤细胞会被消灭,而 CSC 则受影响不大,利用这点差异可以初步鉴定 CSC。ALDH 在肿瘤放疗抵抗中也发挥重要作用。为了研究 ALDH 与肿瘤放疗抵抗之间的关系,Cojoc M 等^[27]将前列腺癌细胞系和原代培养的前列腺癌细胞接受不同剂量的 X 线照射。结果发现,前列腺癌细胞中 ALDH 的活性随照射剂量的增加而升高,而正常细胞中 ALDH 的活性变化不明显。这说明放疗可以激发 CSC 标志 ALDH 的活性。有趣的是,放疗抵抗的前列腺细胞维持更高的 ALDH 活性和 CSC 标记的表达水平,显示更高的 DNA 损伤修复(DNA damage response,DDR)活性,表现在 AKT(Ser 473)和

CHK2(Thr 68)的激酶磷酸化加强,进一步活化其他的 DDR 蛋白,从而导致 ALDH⁺的肿瘤细胞对放疗的抵抗性增加^[28]。在放疗抵抗的前列腺癌细胞中 CHK2 高活性与 ALDH 活性密切相关。ALDH⁺细胞照射后的 γ H2AX 焦点数少于 ALDH⁻细胞,且照射后 1h 和 24h,ALDH⁺细胞中 DNA 双链断裂更少,DNA 断裂修复能力更强^[29]。CSC 定居于乏氧的肿瘤微环境中,高表达 ALDH1A1 和 HIF1 α ,促进 DNA 修复,降低 ROS 水平,可有效地保护 ALDH⁺的 CSC 免受放疗损伤^[30]。

这些研究结果说明 ALDH1A1 在抵抗 X 线照射引起的 DNA 损伤和放疗耐受中发挥重要作用。此外,ALDH 的活性还可以反映头颈部鳞癌(HNSCC)中 CSC 对放疗的抵抗性。Ina 等^[31]研究显示,ALDH⁺细胞接受放疗后仍然保持体内的成瘤性,可导致肿瘤复发。HNSCC 细胞中 ALDH 的活性归咎于 ALDH1A3 的作用。如果用 siRNA 抑制 ALDH1A3 的表达后,CSC 的放疗抵抗性减弱。这些研究说明 ALDH1A3⁺的 HNSCC 细胞可能促进放疗后的肿瘤复发,靶向抑制这群细胞可能会改善肿瘤放疗的疗效。

7 靶向肿瘤干细胞中 ALDH 面临的挑战

尽管 ALDH 可作为 CSC 鉴定的一种有效标志物,但是,ALDH 能否成为一个好的治疗靶点,用于清除 CSC 和防止肿瘤复发,依然存在很多争议。很多对 ALDH 的研究没有鉴定出特异性的相关蛋白。ALDH 有 19 种不同的同工酶,大多数研究没有检测单独某一蛋白的作用,可能是因为缺乏特异性的抗体来鉴别 ALDH 亚型。目前普遍使用的基于流式细胞仪的 ALDEFLUOR 实验分离和鉴定 CSC 是一种简单快速的技术,还可以根据 ALDH 活性来监测和分离细胞。但是很多 ALDH 同工酶都可以氧化实验中的底物,有些 ALDH 亚型没有被这种方法检测到,所以必须确定是哪一种同工酶发挥主要的催化活性^[32]。也有证据显示,ALDH 亚型之间有很多重叠,抑制一种 ALDH 亚型可能导致其他的 ALDH 亚型补偿其活性^[33]。而且,ALDH 广泛分布于全身,也高表达于某些正常器官和组织,例如肝脏和肾脏,很难特异性地靶向 CSC 中的 ALDH。因此,需要更深

入的研究来确定哪些 ALDH 亚型主导了 CSC 的放疗抵抗、增殖和分化能力、侵袭性、和转移特性,还应确定哪些 ALDH 亚型是肿瘤类型特异的。

总之,ALDH 在肿瘤干细胞分离鉴定,体内外成瘤性,放疗抵抗中发挥着重要作用。尽管当前靶向肿瘤干细胞中 ALDH 依然面临诸多挑战,但是,随着研究的不断深入,相信在不久的将来,ALDH 将在肿瘤干细胞的分离和鉴定中得到更广泛的应用,ALDH 也必将成为肿瘤干细胞研究中的重要靶点。

参考文献:

- [1] Voutsadakis IA. Proteasome expression and activity in cancer and cancer stem cells[J]. *Tumor Biol*,2017,39(3): 1010428317692248.
- [2] Pan Q,Li Q,Liu S,et al. Concise review:targeting cancer stem cells using immunologic approaches [J]. *Stem Cells*, 2015,33(7):2085–2092.
- [3] Shimamura M,Kurashige T,Mitsutake N,et al. Aldehyde dehydrogenase activity plays no functional role in stem cell-like properties in anaplastic thyroid cancer cell lines [J]. *Endocrine*,2017,55(3):934–943.
- [4] Xia P. Surface markers of cancer stem cells in solid tumors[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*,2014,9(2):102–111.
- [5] Shima H,Yamada A,Ishikawa T,et al. Are breast cancer stem cells the key to resolving clinical issues in breast cancer therapy?[J]. *Gland Surg*,2017,6(1):82–88.
- [6] Dong Y,Liu H,Zhang Y,et al. Comparative genomic study of ALDH gene superfamily in *Gossypium*:a focus on *Gossypium hirsutum* under salt stress [J]. *PLoS One*, 2017,12(5):e0176733.
- [7] Kolawole AO,Agaba RJ,Oluwale MO. Spectroscopic characterisation of interaction of ferulic acid with aldehyde dehydrogenase(ALDH)[J]. *Int J Biol Macromol*,2017, 98:247–255.
- [8] Duhachek-Muggy S,Qi Y,Wise R,et al. Metalloprotease-disintegrin ADAM12 actively promotes the stem cell-like phenotype in claudin-low breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2017,16(1):32.
- [9] Clark DW,Palle K. Aldehyde dehydrogenases in cancer stem cells:potential as therapeutic targets [J]. *Ann Transl Med*,2016,4(24):518.
- [10] Meng E,Mitra A,Tripathi K,et al. ALDH1A1 maintains ovarian cancer stem cell-like properties by altered regulation of cell cycle checkpoint and DNA repair network signaling[J]. *PLoS One*,2014,9(9):e107142.

- [11] Lin M, Li SY, Xu KC, et al. Safety and efficacy study of lung cancer stem cell vaccine [J]. *Immunol Res*, 2015, 62 (1): 16–22.
- [12] Dong HY, Wu CY. Application of ALDH1 in isolation and identification of stem cells and cancer stem cells [J]. *Chinese Journal of Cancer Biotherapy*, 2011, 18 (6): 682–685. [董华英, 吴诚义. ALDH1 与干细胞和肿瘤干细胞的筛选鉴定[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18(6): 682–685.]
- [13] Li Q, Lu L, Tao H, et al. Generation of a novel dendritic-cell vaccine using melanoma and squamous cancer stem cells[J]. *J Vis Exp*, 2014, (83): e50561.
- [14] Ning N, Pan Q, Zheng F, et al. Cancer stem cell vaccination confers significant antitumor immunity[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(7): 1853–1864.
- [15] Kaseb HO, Fohrer-Ting H, Lewis DW, et al. Identification, expansion and characterization of cancer cells with stem cell properties from head and neck squamous cell carcinomas[J]. *Exp Cell Res*, 2016, 348(1): 75–86.
- [16] Larzabal L, El-Nikhely N, Redrado M, et al. Differential effects of drugs targeting cancer stem cell (CSC) and non-CSC populations on lung primary tumors and metastasis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79798.
- [17] Muzio G, Maggiora M, Paiuzzi E, et al. Aldehyde dehydrogenases and cell proliferation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(4): 735–746.
- [18] Song DY, Wang Y, Sun L, et al. Progress in tumor-stem cell theory and tumor stem cells isolation and identification[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2012, 26(5): 674–679. [宋东颖, 王毅, 孙岚, 等. 肿瘤干细胞理论及肿瘤干细胞分离和鉴定研究进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2012, 26(5): 674–679.]
- [19] Ginestier C, Hur 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.
- [20] Clay MR, Tabor M, Owen JH, et al. Single-marker identification of head and neck squamous cell carcinoma cancer stem cells with aldehyde dehydrogenase[J]. *Head Neck*, 2010, 32 (9): 1195–1201.
- [21] Honoki K, Fujii H, Kubo A, et al. Possible involvement of stem-like populations with elevated ALDH1 in sarcomas for chemotherapeutic drug resistance[J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(2): 501–505.
- [22] Januchowski R, Wojtowicz K, Zabel M. The role of aldehyde dehydrogenase (ALDH) in cancer drug resistance[J]. *Biomed Pharmacother*, 2013, 67(7): 669–680.
- [23] Parajuli B, Georgiadis TM, Fishel ML, et al. Development of selective inhibitors for human aldehyde dehydrogenase 3A1 (ALDH3A1) for the enhancement of cyclophosphamide cytotoxicity [J]. *Chembiochem*, 2014, 15(5): 701–712.
- [24] Tanei T, Morimoto K, Shimazu K, et al. Association of breast cancer stem cells identified by aldehyde dehydrogenase 1 expression with resistance to sequential Paclitaxel and epirubicin-based chemotherapy for breast cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(12): 4234–4241.
- [25] Croker AK, Allan AL. Inhibition of aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity reduces chemotherapy and radiation resistance of stem-like ALDHhiCD44 human breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 133(1): 75–87.
- [26] Januchowski R, Wojtowicz K, Sterzyńska K, et al. Inhibition of ALDH1A1 activity decreases expression of drug transporters and reduces chemotherapy resistance in ovarian cancer cell lines [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 78: 248–259.
- [27] Cojoc M, Peitzsch C, Kurth I, et al. Aldehyde Dehydrogenase Is Regulated by β -Catenin/TCF and Promotes Radioresistance in Prostate Cancer Progenitor Cells[J]. *Cancer Res*, 2015, 75 (7): 1482–1494.
- [28] Liu Q, Turner KM, Alfred Yung WK, et al. Role of AKT signaling in DNA repair and clinical response to cancer therapy[J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(10): 1313–1323.
- [29] Meng E, Mitra A, Tripathi K, et al. ALDH1A1 maintains ovarian cancer stem cell-like properties by altered regulation of cell cycle checkpoint and DNA repair network signaling[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107142.
- [30] Pastukh V, Roberts JT, Clark DW, et al. An oxidative DNA "damage" and repair mechanism localized in the VEGF promoter is important for hypoxia-induced VEGF mRNA expression [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309(11): L1367–L1375.
- [31] Kurth I, Hein L, Mäbert K, et al. Cancer stem cell related markers of radioresistance in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(33): 34494–34509.
- [32] Moreb JS, Ucar D, Han S, et al. The enzymatic activity of human aldehyde dehydrogenases 1A2 and 2 (ALDH1A2 and ALDH2) is detected by Aldefluor, inhibited by diethylaminobenzaldehyde and has significant effects on cell proliferation and drug resistance [J]. *Chem Biol Interact*, 2012, 195(1): 52–60.
- [33] Marcato P, Dean CA, Giacomantonio CA, et al. Aldehyde dehydrogenase: its role as a cancer stem cell marker comes down to the specific isoform[J]. *Cell Cycle*, 2011, 10 (9): 1378–1384.