

结肠癌干细胞表面标志的研究和信号传导

陈远崇

Colon cancer stem cell surface markers and signal transduction research

Chen Yuan-chong

Abstract

BACKGROUND: In recent years, studies have shown that colon cancer stem cells are involved in tumor recurrence and metastasis, which have brought a new hope for cancer targeted therapy.

OBJECTIVE: To investigate the isolation and identification method of colon cancer stem cell surface markers as well as relevant signal transduction pathways.

METHODS: A computer-based search of Medline and CNKI databases (2000-01/2011-06) was performed to retrieve colon cancer stem cell surface markers and signal transduction using the keywords of "colon cancer stem cell, cancer stem cell, cell surface sign, signal transduction" in English and Chinese, respectively. Repetitive articles or Meta analyses were excluded, and finally 40 articles were included in result analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: CD133⁺ and CD44⁺ are used as colon cancer stem cell surface markers. Closely related to colon cancer stem cells, Wnt signaling pathway plays an important role in stem cell homeostasis, and Notch signaling pathway is a major stem cell signaling pathway. Based on studies of colon cancer stem cell surface markers, the early presence of the tumor can be detected; to grasp the biological characteristics of colon cancer stem cells and signal transduction pathway can reduce tumor recurrence, and reduce the difficulty in diagnosis and treatment of colon cancer.

Chen YC. Colon cancer stem cell surface markers and signal transduction research. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(45): 8525-8528. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Department of General Surgery, Fifth Hospital of Zhangjiakou City, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China

Chen Yuan-chong, Associate chief physician, Department of General Surgery, Fifth Hospital of Zhangjiakou City, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China liyi7215098@163.com

Received: 2011-06-20
Accepted: 2011-09-20

摘要

背景: 近年来研究表明, 结肠癌干细胞参与肿瘤的复发和转移, 为恶性肿瘤靶向治疗带来新的希望。

目的: 探讨结肠癌干细胞特异表面标志的分离和鉴定方法, 以及与结肠癌干细胞研究紧密相关的信号通路。

方法: 以“结肠癌干细胞, 肿瘤干细胞, 细胞表面标志, 信号传导”为中文关键词, 以“colon cancer stem cell, cancer stem cell, cell surface sign, signal transduction”为英文关键词, 采用计算机检索 Medline 和 CNKI 数据库 2000-01/2011-06 有关结肠癌干细胞表面标志和信号传导的相关文章, 排除重复研究或 Meta 分析类文章, 筛选纳入 40 篇文献进行评价。

结果与结论: CD133⁺与 CD44⁺可作结肠癌干细胞的表面标志。与结肠癌干细胞紧密相关的信号通路有 Wnt 和 Notch 等, Wnt 信号通路在干细胞内环境稳定中起重要作用, Notch 信号通路是干细胞信号网络的重要通路。通过研究结肠癌干细胞的表面标志, 可以及早地检测出肿瘤的存在; 掌握结肠癌干细胞的生物学特性和信号转导路径, 可减少肿瘤的复发, 为结肠癌的诊断和治疗降低难度。

关键词: 结肠癌干细胞; 细胞表面标志; 细胞信号传导; 组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.45.037

陈远崇. 结肠癌干细胞表面标志的研究和信号传导[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(45):8525-8528. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

2005年 Glinsky 等^[1]在几种肿瘤中发现少量的干细胞样细胞, 具有许多特性: ①具有自我更新和分裂增殖的能力。②存在相似的生长调控机制, 许多与癌细胞相关的信号调节通路可能也调控正常干细胞的发育。③具有比较类似的表面标志物。④具有迁移的特性。⑤一定条件下可以相互转化。⑥可分为长期增生细胞、短期增生细胞和分化细胞。⑦具有端粒酶性。⑧通过对称和非对称方式分裂。这些发现都具有重要意义, 人们将这种具有自我更新和分化潜能的肿瘤细胞定义为肿瘤干细胞^[2-4]。

肿瘤干细胞对放化疗具有更强的耐受性,

与肿瘤发生、发展、耐药、转移和复发有很紧密的联系, 为结肠癌的预防和治疗提供新的靶点^[5]。肿瘤干细胞首先被证实存在于实体瘤中是在乳腺癌中^[6], 而后在白血病、脑肿瘤、肺癌中得到证实^[7], 后来发现在结直肠癌中存在^[8-9]。目前, 肿瘤干细胞的分离主要采用流式细胞法和免疫磁珠分选法^[10-13]。根据细胞表达不同表面标志的特征进行细胞群筛选, 比较各组细胞的恶性生物学行为差异, 从而筛选出优势细胞的表面标志, 有时为了纯化细胞可将各种表面标志组合来获得肿瘤干细胞。另外, 利用流式细胞技术和 DNA 染料 Hoechst33342, 筛选出细胞核浅染或不着色的 SP 细胞, 也被证实具有肿瘤干细胞的特征。本文探讨结肠癌干细胞特异表面标志的分离和鉴定方法, 以及与结肠

张家口市第五医院普通外科, 河北省张家口市 075000

陈远崇, 男, 1965年生, 汉族, 河北省张家口市人, 副主任医师, 主要从事结直肠癌的诊治研究。liyi7215098@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2011)45-08525-04

收稿日期: 2011-06-20
修回日期: 2011-09-20
(20111020015/G · W)

癌干细胞研究紧密相关的信号通路。

1 资料和方法

1.1 入选标准

纳入标准: ①结肠癌干细胞研究的相关文献。②肿瘤干细胞研究的相关文献。③细胞表面标志的相关文献。④信号传导的相关文献。

排除标准: 重复研究或 Meta 分析类文章。

1.2 资料提取策略 由作者采用计算机检索 2000-01/2011-06 Medline 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>)及 CNKI 数据库(<http://epub.cnki.net>)有关结肠癌干细胞表面标志和信号传导的文献。中文关键词: 组织工程, 干细胞, 结肠癌干细胞, 细胞表面标志, 细胞信号传导; 英文关键词: colon cancer stem cell, cancer stem cell, cell surface sign, signal transduction。

1.3 对纳入文献的评价 经检索共查到相关文献 150 余篇。经阅读标题、摘要、全文后, 排除内容重复、Meta 分析类文章后筛选纳入 40 篇文献进行评价。

2 结果

2.1 结肠癌干细胞表面标志 CD133 表面黏附分子显著特点是表达随着细胞的分化迅速下调^[14], 最初被作为造血干细胞和神经干细胞的分子标记, 并指出可能是肿瘤干细胞特异的分子标记之一。CD133 是一个单基因产物, 位于 4 号染色体, 37 个外显子; CD133 糖蛋白是细胞表面蛋白家族中的一员, 相对分子量为 117 000, 由 865 个氨基酸组成, 结构独特。一个细胞外区的 N-端, 5 个跨膜区域, 有 2 个大的细胞外 loop 环, 1 个 59 个氨基酸的细胞内尾, 8 个 N-糖基化区^[15-16]。

O'Brien 等^[8]通过 NOD/SCID 小鼠肾被膜移植模型, 证明结肠癌干细胞都是 CD133⁺表达, CD133⁻细胞不能成瘤, 并发现结肠癌干细胞具有自我更新和多向分化能力, 具有传代致瘤的特征, 还可通过不对称分裂分化为 CD133⁺与 CD133⁻细胞, 从功能学的角度证明 CD133⁺作为结肠癌干细胞表面标志的合理性。Haraguchi 等^[17]发现 CD133、CD44 细胞可致瘤。CD44 是细胞表面的糖蛋白, 与细胞相互作用, 细胞黏附和迁移有关, 被认为与肿瘤干细胞的迁移有关, 并作为肿瘤干细胞的分选标记, 但是否能够增加肿瘤干细胞的纯度, 在结肠癌的研究中还没有报道, 只有分离出高纯度的肿瘤干细胞, 才能研究其分子机制和特性。Huang 等^[18]发现乙醛脱氢酶 1 可作为结肠癌干细胞标志较好。Dalerba 等^[19]引入上皮细胞黏附分子在结肠癌干细胞研究, 还发现 CD166 作为协同标志的价值。Pang 等^[20]在结直肠癌中分离出 CD26⁺细胞, 注入小鼠盲肠壁后发生远处转移, 在侵袭

性和耐药性方面较 CD26⁻细胞更强。Cammareri 等^[21]发现丝氨酸-苏氨酸激酶在结肠癌干细胞中高表达, 而且基因下调可导致结肠癌干细胞成瘤及转移能力下降。Dessein 等^[22]发现抗药的结肠癌细胞具有更强的侵袭、转移和耐药性, CXCR4-MIF 轴在调控结肠癌干细胞中有重要作用。

2008 年美国霍华德休斯医学院的新研究有了新的发现。有学者利用 CD133 启动子驱动报告基因 LacZ 转基因小鼠模型发现, CD133 广泛表达于结肠中正常的已分化的表皮细胞。并且 AC133 抗体染色证实, 成年小鼠和人类所有的结肠内腔表皮细胞都表达 CD133。通过利用携带 CD133 报告基因的小鼠和白细胞介素 10 基因敲除的小鼠杂交以培育出携带 CD133 报告基因的自发型结肠癌小鼠证明, 和人的原发性结肠癌一样, 鼠的原发性结肠癌样品中所有的表皮细胞都表达 CD133, 而非表皮细胞不表达 CD133。然而, 令人惊奇的是, 在结肠癌已转移至肝脏的不同患者的肿瘤样品中, 有的表达 CD133, 有的不表达 CD133。将表达 CD133 和不表达 CD133 的肿瘤细胞移植到 NOD/SCID 的小鼠体内, 则两种细胞都能很快地生成肿瘤。而且, 不表达 CD133 的肿瘤细胞更具有侵略性, 形成肿瘤的速度更快, 说明转移的结肠癌细胞不论是否表达 CD133, 都具有引发肿瘤生成的能力。因此, CD133 不能作为结肠癌干细胞特异性的表面标记。

结肠癌干细胞表面标志的筛选研究有很多, 但没有发现一种高度特异的表面标志分离和鉴定结肠癌干细胞。结合相关文献分析见表 1。

2.2 结肠癌干细胞与信号转导 近年来, 从基因水平、转录水平、蛋白质水平和细胞信号通路等方面对肿瘤进行很多研究, 肿瘤的发病机制逐渐被证实。从分子遗传机制角度来看, 结肠癌可能是目前研究最多的恶性肿瘤之一。与结肠癌干细胞紧密相关的信号通路有 Wnt、Notch、Jak-stat 等^[31]。

2.2.1 Wnt 信号通路与结肠癌干细胞 Wnt 基因是一个大家族, 其编码产物对调节上皮细胞增殖和分化起作用, 人类 Wnt 家族至少有 19 个成员, 受体家族类 FZ 至少有 10 个成员, Wnt 与 FZ 结合可以激活信号通路。利用小鼠肠道 Dickkopf 相关蛋白 1 转基因表达实验, 发现在新生小鼠肠道隐窝中增生细胞减少, 成年后小鼠完全推动隐窝^[32]。敲除 Tcf 基因的小鼠上也有显型。Dickkopf 相关蛋白 1 转基因鼠的例子提供强有力的证据表明 Wnt 在肠道中的作用。Byun 等^[33]发现胃肠道分泌的 Wnt 对抗物表达在干细胞稳定中起重要作用。调节 Wnt 信号通路的启动在干细胞自稳方面起重要作用, 如 Dickkopf 相关蛋白 1 和突变相关蛋白在结肠癌组织中不表达, Wnt 抑制因子 1、Dickkopf 相关蛋白 2、Dickkopf 相关蛋白 3 在大多数结肠癌组织中均表达, 在隐窝基质表达量明显

表 1 结肠癌干细胞表面标志的实验研究

作者及文献来源	方法	结果	结论
陈克力等 ^[23] 《解放军医学杂志》	取HCT116细胞在无血清条件下培养, 观察细胞在无血清培养基中的增殖分化情况, 采用限量稀释法计数细胞的克隆球形成率	大部分HCT116细胞为CD133 ⁺ 和CD44 ⁺ , 并表达ABC2蛋白。HCT116细胞的克隆球分化至第4天即可检测到CK20表达	大部分HCT116细胞具有肿瘤干细胞特性, 可作为肿瘤干细胞研究的理想对象
青青等 ^[24] 《南方医科大学学报》	免疫磁珠分选CD133 ⁺ SW480肿瘤干细胞亚群, Western blotting比较SW480细胞与CD133 ⁺ SW480肿瘤干细胞亚群HIF-1 α 的表达差异	经MACS分选所得CD133 ⁺ SW480细胞中, CoCl ₂ 模拟缺氧培养后CD133 ⁺ SW480肿瘤干细胞亚群无血清培养肿瘤干细胞形成率较常规培养明显增强; SW480经CoCl ₂ 模拟缺氧其CD133、survivin、VEGF等mRNA表达分别升高	缺氧可使肿瘤干细胞形成能力增强, CD133 ⁺ SW480肿瘤干细胞亚群较普通SW480更能够耐受缺氧
张洪也等 ^[25] 《中国肿瘤生物治疗杂志》	从普通血清培养的LoVo细胞系中以流式细胞仪分选具有CD44 ⁺ /EPCAM ^{high} 表型的细胞, 接种于添加生长因子的无血清培养基中, 观察其增殖过程, 继而诱导分化	LoVo细胞中有17.4%的CD44 ⁺ /EPCAM ^{high} 细胞, 并在添加生长因子的无血清培养基中呈细胞球样生长, 且可连续传代; 在血清的诱导下, 呈贴壁分化生长, 其形态与未分选LoVo细胞无差别	LoVo细胞中存在CD44 ⁺ /EPCAM ^{high} 结肠癌干细胞样细胞。CD44 ⁺ /EPCAM ^{high} 可用于结肠癌肿瘤干细胞的深入研究
巩超捷等 ^[26] 《内科理论与实践》	应用克隆形成实验、表面标志检测、双苯酰亚胺33342染色检测来确定培养细胞中肿瘤干细胞比例及其培养后的肿瘤干细胞含量变化	HT29细胞系中CD44 ⁺ 细胞含量为(44.18±2.18)%, 而细胞球中CD44 ⁺ 细胞含量为(83.41±11.21)%; 双苯酰亚胺33342染色检测提示HT29中侧群SP细胞含量为(3.82±0.08)%, 而细胞球中含量明显增高	结肠癌细胞系HT29中含有结肠癌干细胞样细胞亚群。表面标志以及双苯酰亚胺33342检测差异提示细胞球中仅部分细胞具有干细胞的功能
李亚卓等 ^[27] 《中华肿瘤防治杂志》	用Hoechst33342染色检测SGC-7901和Colo-205细胞株中SP细胞的比例; 通过荧光免疫细胞化学染色比较Id2在SP细胞与非SP细胞中表达的差异	Id2在SGC-7901细胞SP中的阳性表达率为34.2%, 显著低于在非SP中的阳性表达率97.7%, 而Id2在Colo-205细胞SP中的阳性表达率达77.4%, 显著高于在非SP中的阳性表达率4.8%	Id2可能是胃癌SGC-7901细胞中SP细胞的阴性分子标志, 同时可能是结肠癌Colo-205细胞中SP细胞的阳性分子标志
刘美等 ^[28] 《第三军医大学学报》	NOD2SCID小鼠致瘤实验和Transwell侵袭实验比较3种方法的富集效率; 分别测量不同时间点各组小鼠成瘤情况; 免疫组化检测移植瘤中CD44和EPCAM的表达情况	各组移植瘤中均表达CD44和EPCAM。3种分选方法所获得细胞中干细胞含量由高到低为:多重联合分选后细胞、无血清悬浮培养+奥沙利铂处理细胞、单纯无血清悬浮培养细胞	多重联合富集肿瘤干细胞的效果明显强于单纯无血清悬浮培养和无血清悬浮培养+化疗药物法, 是获得肿瘤干细胞较好的方法
邓艳红等 ^[29] 《中国病理生理杂志》	用流式细胞仪检测CD133在结肠癌细胞株表面的表达, 磁珠细胞分离的方法分离结肠癌细胞株DLD1中CD133阳性和阴性的细胞群, 新型四唑氮盐方法检测细胞对5-FU敏感性的差异, RT-PCR方法检测5-FU处理结肠癌细胞后CD133 mRNA水平的变化	DLD1细胞中以CD133为标记有2群明显的细胞, MACS方法分离后阳性细胞群中CD133为(87.21±5.33)%, 而阴性细胞群中阴性细胞的比例为(84.30±4.65)%; CD133阳性的细胞与未分离及CD133阴性细胞相比, 克隆形成能力强, 对5-FU的敏感性下降20%。在DLD1和HT29细胞中, 5-FU 1 mg/L上调CD133 mRNA水平的表达	与CD133阴性细胞相比CD133阳性细胞克隆形成能力强, 对5-FU的敏感性下降; 5-FU上调细胞标记物CD133 mRNA水平的表达, CD133阳性的结肠癌干细胞在5-FU的治疗过程中被富集
陈克力等 ^[30] 《中华肿瘤防治杂志》	RT-PCR检测8种结肠癌细胞中CD133的表达情况。利用条件培养观察8种细胞系的肿瘤细胞在无血清培养基中的生物学特性。利用裸鼠成瘤模型检测成瘤能力和转移能力	CD133在8种细胞系中的表达有显著差异, 最高的HCT116细胞系中CD133 ⁺ 细胞含量为(91.4±5.0)%。各种细胞系细胞均能在无血清培养基中增殖, 但只有HCT116细胞能形成典型的“神经球样结构”且具有较高的成瘤能力和转移能力	相对于其他7种细胞系, HCT116细胞具有多种肿瘤干细胞的生物学特性, 更适合于结肠癌干细胞的研究

增多, 结肠癌干细胞就是聚集在此, Wnt 对抗物可能在干细胞池维持及结肠癌细胞增殖方面起着重要作用。

2.2.2 Notch 信号通路与结肠癌干细胞 Notch 信号通路是干细胞信号网络的重要通路, 对正确发育、细胞命运决定、增殖等具有重要作用, 与许多细胞因子和信号途径联系^[34-36]。胃肠道上皮组织的干细胞及其祖细胞的经典 Notch 信号通路均可减少。Notch 配体与受体结合, 导致这些受体被金属蛋白酶和 γ -分泌酶水解, 然后释放出 Notch 细胞内区域。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。Notch 信号通路在结肠癌中抑制分泌细胞分化。 γ -分泌酶抑制剂作为 Notch 信号通路抑制因子, 有可能开发为胃肠道癌的抗癌药^[37]。

3 小结

结肠癌按发病机制分为遗传性和非遗传性, 有

20%~30%结肠癌患者具有家族史, 幼年性息肉病是一种少见的结肠癌综合征, 属常染色体显性遗传病, 多见于儿童和青少年, 患者的结肠黏膜表皮细胞恶性增殖, 通常形成 50~200 个息肉, 息肉被大量的基质包围, 呈现慢性炎症状态, 沿着整个肠管线性分布, 因为这些息肉的结构, 使结肠癌的可能性为 9%~50%。除遗传性结肠癌外, 没有明确遗传背景的非遗传性结肠癌发生率为 70%~80%, 发病机制可能与环境因素和饮食习惯相关。

目前在肿瘤治疗中, 复发是研究的热点问题, 如果杀死全部的肿瘤干细胞是治愈的关键。随着生物学的深入研究, 有可能筛选出针对所有或某一肿瘤的肿瘤干细胞药物, 结合药物靶向的研究就有可能杀伤特定的肿瘤干细胞, 而且对正常干细胞和祖细胞没有明显的影响。结肠癌干细胞是肿瘤治疗焦点, 通常处于静止状态, 在增殖时开始分裂, 迅速产生子细胞。因此, 传统方法筛选出来的肿瘤药物与肿瘤干细胞的要求差异很大^[38]。目前的治疗方法只是部分或暂时缓解患者的病痛, 无论 CD133 是否可以作为子表面标记, 结肠癌干细胞的存在

已经被证实, 研究结肠癌干细胞的特性、体外培养特性, 找出结肠癌干细胞特异的表面标记, 可以降低治疗的不良作用, 为临床治愈肿瘤提供新的方法^[39-40]。

4 参考文献

- [1] Glinsky GV, Beregovska O, Glinsk AB. Microarray analysis identifies a death-from-cancer signature predicting therapy failure in patients with multiple types of cancer. *J Clin Invest.* 2005; 115(6): 1503-1521.
- [2] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature.* 2004;432(7015):396-401.
- [3] Tysnes BB, Bjerkvig R. Cancer initiation and progression: Involvement of stem cells and the microenvironment. *Biochim Biophys Acta.* 2007;177(2):283-297.
- [4] D'Amour KA, Gage FH. Are somatic stem cells pluripotent or lineage-restricted? *Nat Med.* 2002;8(3):268-273.
- [5] Abbott A. Cancer: the root of the problem. *Nature.* 2006;442:742-743.
- [6] Dontu G, Al-Hajj M, Abdallah WM, et al. Stem cells in normal breast development and breast cancer. *Cell Prolif.* 2003;36(1): 59-72.
- [7] Kim CF, Jackson EL, Wolfenden AE, et al. Identification of bronchioalveolar stem cell in normal lung and lung cancer. *Cell.* 2005;121(6):823-835.
- [8] O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature.* 2007;445(7123):106-110.
- [9] Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature.* 2007; 445(7123):111-115.
- [10] 杨松男,张伶.肿瘤干细胞分离纯化及鉴定的研究策略[J].生命的化学,2007,27(6):565-567.
- [11] 朱言亮,陈龙邦,王靖华,等.肺腺癌细胞株SPC-A1中侧群细胞的分离与肿瘤干细胞样特征的鉴定[J].中国肺癌杂志,2008,11(5):681-685.
- [12] 耿沁,董强刚,姚明,等.肺癌干细胞的球体形成与致瘤性分析[J].肿瘤,2008,28(9):751-754.
- [13] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(7):3983-3988.
- [14] Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood.* 2000;95(3): 952-958.
- [15] Breathnach R, Chambon P. Organization and expression and expression of eukaryotic split genes coding for proteins. *Annu Rev Biochem.* 1981;50:349-383.
- [16] Shmelkov SV, St Clair R, Lyden D, et al. AC133/CD133/Prominin-1. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005;37(4):715-719.
- [17] Haraguchi N, Ohkuma M, Sakashita H, et al. CD133+CD44+ population efficiently enriches colon cancer initiating cells. *Ann Surg Oncol.* 2008;15(10):2927-2933.
- [18] Huang EH, Hynes MJ, Zhang T, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a marker for normal and malignant human colonic stem cells (SC) and tracks SC overpopulation during colon tumorigenesis. *Cancer Res.* 2009;69(8):3382-3389.
- [19] Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, et al. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(24):10158-10163.
- [20] Pang R, Law WL, Chu AC, et al. A subpopulation of CD26+ cancer stem cells with metastatic capacity in human colorectal cancer. *Cell Stem Cell.* 2010;6(6):603-615.
- [21] Cammareri P, Scopelliti A, Todaro M, et al. Aurora-a is essential for the tumorigenic capacity and chemoresistance of colorectal cancer stem cells. *Cancer Res.* 2010;70(11):4655-4665.
- [22] Dessein AF, Stechly L, Jonckheere N, et al. Autocrine induction of invasive and metastatic phenotypes by the MIF-CXCR4 axis in drug-resistant human colon cancer cells. *Cancer Res.* 2010; 70(11): 4644-4654.
- [23] 陈克力,江恒,陈建芳,等.人结肠癌HCT116细胞系肿瘤干细胞特性研究[J].解放军医学杂志,2009,34(11):1292-1296.
- [24] 青青,王媛媛,张绍衡,等.结肠癌细胞体外模拟缺氧的相关研究[J].南方医科大学学报,2011,31(1):133-137.
- [25] 张洪也,程勇,胡祥,等.LoVo细胞系中结肠癌干细胞样细胞的分离、培养及鉴定[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2010,17(2):149-154.
- [26] 巩超捷,夏璐,张宇星,等.无血清悬浮培养结肠癌HT29细胞系及肿瘤干细胞样亚群筛选[J].内科理论与实验,2010,5(4):314-318.
- [27] 李亚卓,赵坡,吕亚莉,等. Id2在SGC-7901和Colo-205肿瘤干细胞相关亚群中表达的研究[J].中华肿瘤防治杂志,2008,15(2):101-104.
- [28] 刘美,李少林,陈宓,等.人结肠癌细胞株CW-2干细胞富集方法的比较[J].第三军医大学学报,2010,32(9):912-916.
- [29] 邓艳红,黄美近,汪建平,等.5氟尿嘧啶上调干细胞标记物CD133在结肠癌细胞中的表达[J].中国病理生理杂志,2009,25(11):2187-2191.
- [30] 陈克力,江恒,陈建芳,等.人结肠癌细胞系肿瘤干细胞特性的初步研究[J].中华肿瘤防治杂志,2009,16(21):1646-1650.
- [31] Cheah PY. Recent advances in colorectal cancer genetics and diagnostics. *Crit Rev Oncol Hemato.* 2009;69(1):45-55.
- [32] Pinto D, Gregorieff A, Begthel H, et al. Canonical Wnt signals are essential for homeostasis of the intestinal epithelium. *Genes Dev.* 2003;17(14):1709-1713.
- [33] Byun T, Karimi M, Marsh JL, et al. Expression of secreted Wnt antagonists in gastrointestinal tissues: potential role in stem cell homeostasis. *J Clin Pathol.* 2005;58(5):515-519.
- [34] Katoh Y, Katoh M. Hedgehog signaling pathway and gastrointestinal stem cell signaling network. *Int J Mol Med.* 2006; 18(6):1019-1023.
- [35] Van Es JH, van Gijn ME, Riccio O. Notch/ γ -secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas into goblet cells. *Nature.* 2005;435(7044):959-963.
- [36] Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature.* 2005;434(7043):843-850.
- [37] Katoh M, Katoh M. Notch signaling in gastrointestinal tract (review). *Int J Oncol.* 2007;30(1):247-251.
- [38] Jiang F, Qiu Q, Khanna A, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell-associated marker in lung cancer. *Mol Cancer Res.* 2009;7(3):330-338.
- [39] Gupta PB, Onder TT, Jiang G, et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. *Cell.* 2009;138(4):645-659.
- [40] Wasaki H, Suda T. Cancer stem cells and their niche. *Cancer Science.* 2009;100(7):1166-1172.