

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.16.008

口腔鳞癌细胞系 NTCR 中侧群细胞的相关研究*

张燕¹ 张萍^{2△} 陈万涛² 严明² 刘文娟¹

(1 上海市徐汇区中心医院口腔科 上海 200031;

2 上海交通大学医学院附属第九人民医院 口腔颌面外科 上海交通大学口腔医学院 上海市口腔医学研究所 上海 200011)

摘要 目的: 口腔鳞癌是口腔颌面部常见的恶性肿瘤之一,本研究以侧群细胞为肿瘤干细胞突破口,通过检测、分选口腔鳞癌细胞系 NTCR 中侧群细胞(side population, SP)细胞亚群,深入研究不同细胞亚群的体内、外相关生物学特性,寻找口腔鳞癌中肿瘤干细胞存在的证据。**方法:** 选取口腔鳞癌细胞系 NTCR 作为研究对象, Hoechst 33342 染色后行流式细胞仪检测,分选口腔鳞状细胞癌中的 SP 细胞和非 SP 细胞,进行体外培养、长期分化和体内成瘤实验,对 2 种亚群细胞的体内和体外生物学特性进行检测和比较。**结果:** 口腔鳞状细胞癌细胞系 NTCR 中含有 9.3 % SP 细胞,其 SP 细胞在细胞的增殖能力、自我更新能力及裸鼠体内成瘤能力等方面与干细胞特性相似。**结论:** SP 细胞可以认为是肿瘤干细胞的富集。进一步深入研究,有可能作为口腔鳞癌诊断、治疗和预后的靶标。

关键词: 口腔鳞状细胞癌;侧群细胞;NTCR

中图分类号:R739.8 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2015)16-3034-04

Correlational Research on Side Population Cells of OSCC Cell Line NTCR*

ZHANG Yan¹, ZHANG Ping^{2△}, CHEN Wan-tao², YAN Ming², LIU Wen-juan¹

(1 Department of Stomatology, The Central Hospital of Xuhui District of Shanghai, 966 The Middle Huaihai Road, Shanghai, 200031, China; 2 Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Ninth People's Hospital, College of Stomatology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai Research Institute of Stomatology, Shanghai, 200011, China)

ABSTRACT Objective: Oral squamous cell carcinoma is one of the most common malignant tumors in the head and neck. To find the existing evidences of cancer stem cells, the side population (SP) cells in oral squamous cell carcinoma cell line NTCR was examined and sorted, and the biological characteristics of in vivo and in vitro were studied. **Methods:** Hoechst 33342 dye was used to explore and sort SP cells and non-SP cells with the object of studying oral squamous cell carcinoma cell line NTCR. The two subpopulation cells' proliferation, differentiation and tumorigenicity in nude mice were compared in vivo and in vitro. **Results:** 9.3 % SP cells were found in NTCR cells. And its histological characteristic in proliferation, differentiation and tumorigenicity in nude mice was especially similar with stem cells. **Conclusions:** SP in oral squamous cell carcinoma is enriched with stem-like cancer cells, and may be an important target for detection, treatment and prognosis of OSCC.

Key words: Oral squamous cell carcinoma; Side population; NTCR

Chinese Library Classification(CLC): R739.8 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)16-3034-04

前言

口腔鳞状细胞癌是一种常见的口腔颌面部疾病,晚期患者尤其是复发和伴有转移的患者预后很不理想,因此本病的诊断和治疗方法亟待改善和发展。近年来提出的肿瘤干细胞理论为肿瘤诊断和治疗水平的提高带来了希望。口腔鳞癌中是否含有肿瘤干细胞?如何识别肿瘤干细胞?肿瘤干细胞特性如何鉴定?这些问题摆在了我们面前,需要解答。侧群细胞(side population cell, SP)^[1]是一小群能够将 Hoechst 33342 荧光染料泵出细胞外的细胞亚群;侧群细胞是一群更为原始的干细胞或者说与干细胞有极大的相似性;SP 表型被认为是各种来源的干细胞

的普遍标志。本研究以侧群细胞为中介,来找寻口腔鳞癌中的肿瘤干细胞。研究选取口腔鳞癌细胞系 NTCR 作为研究对象, Hoechst 33342 染色后行流式细胞仪检测,分选口腔鳞状细胞癌中的 SP 细胞,确定口腔鳞癌中 SP 细胞的存在以及含量。进一步对 SP 细胞和非 SP 细胞的体内外生物学特性进行鉴别,从而为 SP 具有干细胞特性提供了有力证据。

1 材料与方法

1.1 材料

人口腔鳞癌细胞系 NTCR 由上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔肿瘤生物学实验室提供;胎牛血清、RP-

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81272978)

作者简介:张燕(1982-),女,硕士研究生,主治医师,主要研究方向:口腔颌面部肿瘤,电话:18821145441, E-mail: zhangyan205243@126.com

△ 通讯作者:张萍,女,博士生导师,主任医师,主要研究方向:口腔颌面部肿瘤, E-mail: pingzhang73@hotmail.com

(收稿日期:2014-12-26 接受日期:2015-01-20)

MI-1640 培养基、DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司; 乙二胺四乙酸(EDTA)购自华美生物工程公司; Hoechst 33342 荧光染料、维拉帕米购自美国 Sigma 公司; 碘化丙啶(PI)购自美国 BD 公司; BALB/C nu/nu 裸鼠由中科院上海实验动物 (SYXK (沪) 2007-0007) 中心所购买; CO₂ 细胞培养箱购自日本三洋公司; 流式细胞仪购自美国 Beckman Coulter 公司; 倒置相差显微镜购自日本 Nikon 公司。

1.2 方法

1.2.1 SP 细胞的检测和分选 选用对数生长期的 NTCR 细胞系进行实验, 调整细胞密度为 10⁵/mL, 制成单细胞悬液重悬于 DMEM 培养液(含 2% FBS)中。设实验组和对照组, 实验组中加入 Hoechst 33342 至终浓度为 100 M, 对照组中同时再加入维拉帕米至终浓度为 50 M, 37℃ 水浴 90 min, 每 15 min 振荡混匀一次。1000 rpm 离心 5 min 离心弃上清, 4℃ PBS 洗涤 2 次, 重悬于 4℃ 含 2% FBS 的 PBS 中。加入 PI 至终浓度为 25 M, 染色 5 min 以区分活细胞和死细胞。置冰上保存, 待上机检测或分选。检测和分选使用 Beckman Coulter EPICS ALTRA 流式细胞仪。Hoechst 33342 在紫外光 351-364 nm 时被激发, 其荧光信号经过 515 nm 和 608 EFLP 光学过滤可以被检测到。分选在无菌条件下操作, 分选得到的 SP 细胞和非 SP 细胞分别收集于离心管中, 每管 0.5 mL FBS。收集到的 SP 细胞和非 SP 细胞留待进一步的实验使用。

1.2.2 体外培养观察 SP 细胞和非 SP 细胞形态特点 新鲜分选下来的 SP 细胞和非 SP 细胞(各 5×10⁴ 个)在 RPMI-1640 培养液(含 10% FBS)中培养 8 天, 观察 2 组细胞生长速度, 形态等方面有无差异。

1.2.3 生长分化实验 新鲜分选下来的 SP 细胞和非 SP 细胞在 RPMI-1640 培养液(含 10% FBS)中培养 14 天后, 用消化液(含 0.25% 胰酶和 0.02% EDTA)消化, 离心, DMEM 培养液(含 2% FBS)重悬。方法同 1.2.1, Hoechst 33342 染色, 上机检测 2 种细胞中 SP 细胞的含量。以此来判断在体外培养 14 天后 SP 细胞和非 SP 细胞的分化情况。

1.2.4 SP 细胞和非 SP 细胞体内生物学特性的研究 新鲜分选的 SP 细胞和非 SP 细胞 PBS 按 1×10⁵ 和 1×10⁴ 分成 2 组数量级, 每组重复 2 次, 分别重悬于 100 μL RPMI-1640(含 10% FBS)/matrigel(1:1)中, 置于冰上备用。如表 1 所示, 4 周龄雌性裸鼠, SP 细胞组分 2 组, 每组 2 只, 共 4 只裸鼠, 每只裸鼠选取后肢 2 个点, 皮下注射 SP 细胞; 非 SP 细胞组分 2 组, 每组 2 只, 共 4 只裸鼠, 每只裸鼠选取后肢 2 个点, 皮下注射非 SP 细胞。每个数量级每种细胞分别注射 2 只裸鼠, 每只裸鼠 2 个点。第二周起开始观察裸鼠成瘤情况并作记录。观察 9 周后, 脱臼处死裸鼠, 取下肿瘤用苏木素-伊红(HE)染色, 做常规病理检查。采用 SAS 6.12 统计学软件对两组细胞裸鼠成瘤率和成瘤时间进行检验, 检验水准 P=0.05。

表 1 裸鼠实验分组

Table 1 Experiment grouping of nude mice

	1×10 ⁵ cells	1×10 ⁴ cells
SP cells	2 nude mice(4 points)	2 nude mice(4 points)
Non-SP cells	2 nude mice(4 points)	2 nude mice(4 points)

2 结果

2.1 口腔鳞状细胞癌细胞系 NTCR 中 SP 细胞的检测和分选结果

实验使用 Hoechst 33342 染色, 用维拉帕米阻断 Hoechst 33342 作为对照。样本中 SP 细胞的含量等于样本染色组中 SP 的含量减去对照组中 SP 的含量。如图 1 所示, NTCR 细胞中 SP 含量为 9.3%(A: 20.3%-B: 11.0%)。实验在无菌条件下进行分选, 为下一步的研究做准备。

2.2 SP 细胞和非 SP 细胞形态学观察

新鲜分选下来的 SP 细胞和非 SP 细胞(各 5×10⁴ 个)在 RPMI-1640 培养液(含 10% FBS)中培养 8 天, 如图 2 所示, 为 SP 细胞和非 SP 细胞在体外培养第 2 天和第 8 天的情况, 发现两组细胞在生长速度, 细胞形态等方面相似, 无明显差异。

2.3 长期分化结果

分选的 SP 细胞和非 SP 细胞在体外用 RPMI-1640 培养液(含 10% FBS)培养 14 天后, 使用 Hoechst 33342 染色重新检测两组细胞中 SP 细胞的含量, 如图 3 所示: SP 细胞中含有 37.5%(A: 53.5%-B: 16.0%)的 Hoechst 33342 阴性或弱阳性细胞, 而非 SP 细胞中仅含有 0.2%(C: 1.8%-D: 1.6%)的 Hoechst 33342

阴性或弱阳性细胞。

2.4 裸鼠成瘤结果

皮下注射 3 个月后, 裸鼠全部脱臼处死。如图 4 所示: 除了两只注射 1×10⁴ 个 SP 细胞的裸鼠的一侧后肢未成瘤外, 皮下注射 SP 细胞(2 个数量级)的裸鼠后肢双侧全部成瘤(6/8); 与之相反, 非 SP 细胞(2 个数量级)的裸鼠均未成瘤(0/8)。而且, SP 细胞在成瘤时间上也比口腔鳞癌细胞系成瘤时间要短。皮下注射 SP 细胞的裸鼠成瘤时间为 3-5 周, 而通常口腔鳞癌细胞系裸鼠成瘤时间为 8 周。SAS 6.12 统计学软件分析结果表明, SP 细胞在裸鼠体内成瘤能力明显高于非 SP 细胞(P<0.05)。

3 讨论

近年来, 科学家的目光更多地转向了对干细胞和肿瘤细胞关系的研究。有证据表明, 突变的靶标是正常的干细胞, 突变"打击"了正常干细胞的自我更新能力, 肿瘤细胞的增生是由突变来的肿瘤干细胞所调控的^[2]。早在上世纪 70 年代科学家就提出肿瘤是一种干细胞疾病的概念^[3], 他们发现肿瘤细胞在增殖和分化等方面与干细胞极为相似。Buick 等^[4]引用白血病病人骨髓中的实验来支持"分化受阻"的模型, 最先提出了恶性转化可能限制正常多潜能干细胞的分化能力。Mackenzie 等^[5]人

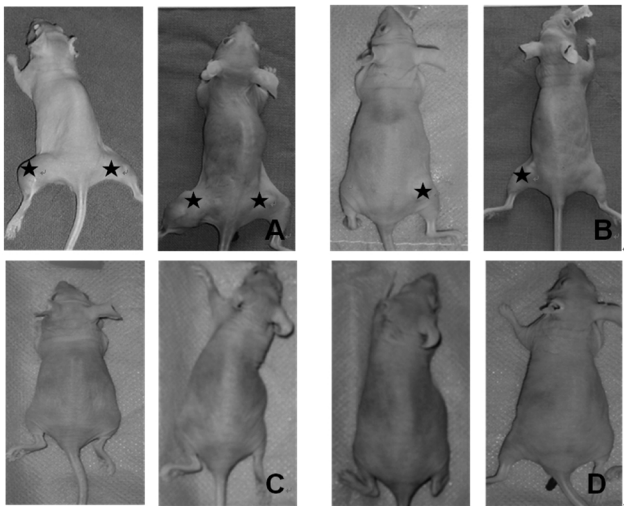


图 1 口腔鳞状细胞癌细胞系 NTCR 中 SP 细胞含量图

Fig.1 The percentage of SP cells in oral squamous cell carcinoma cell line NTCR

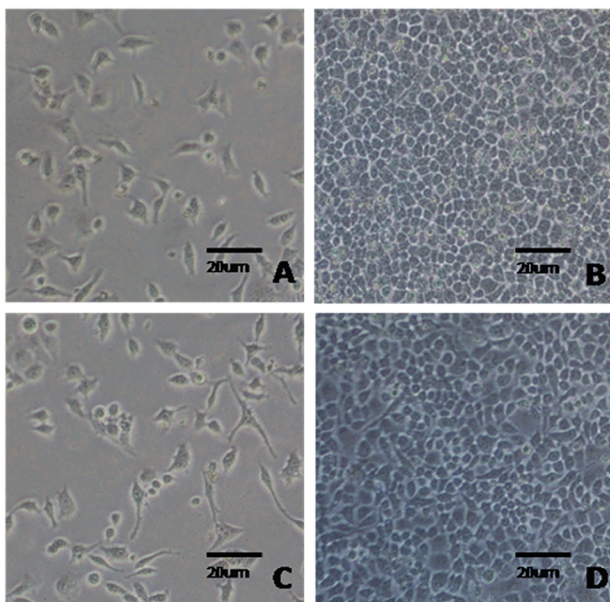


图 2 SP 细胞和非 SP 细胞体外培养生长形态(400×)

Fig.2 In vitro growth characteristics of SP and no-SP cells

- A: SP cells 2nd days;
 B: SP cells 8th days;
 C: non-SP cells 2nd days;
 D: non-SP cells 8th days

采用 "organotypic" 体外培养体系,证实了在口腔鳞癌中仅有很少量的细胞具有克隆形成能力,Locke 等^[9]则发现即使是在体外长期培养扩增的人口腔鳞癌细胞也包含着不同类型的细胞亚群,分别与正常口腔粘膜上皮的干细胞和 TA 细胞相对应,而其中一小群细胞似乎具有干细胞样特征。越来越多的证据表明,口腔鳞癌中存在肿瘤干细胞^[7]。

目前大部分肿瘤干细胞表面标志物并不明确,如何有效分离和鉴定肿瘤干细胞是研究工作的一大难题,也是进一步研究肿瘤干细胞的生物学特性,明确肿瘤干细胞导致肿瘤形成的分子机制以及肿瘤干细胞内异常的信号转导途径的关键。

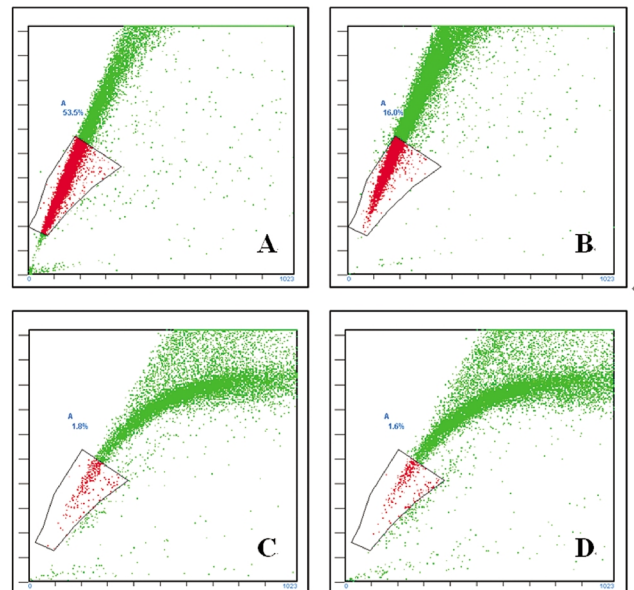


图 3 体外培养 14 天后两组细胞的 SP 含量

Fig.3 The percentage of SP cells in SP and non-SP group after culturing 14 days

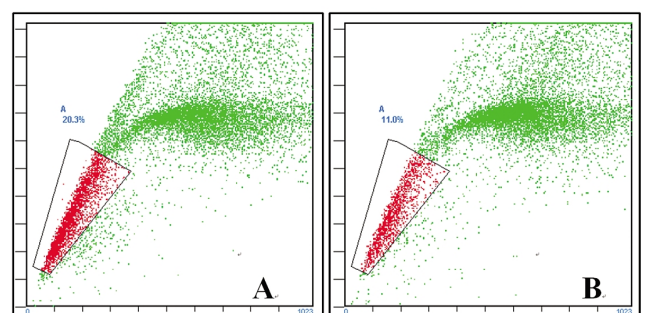


图 4 裸鼠成瘤实验

Fig.4 Tumor formation in nude mice

- A: inoculated 1×10^5 SP cells;
 B: inoculated 1×10^4 SP cells;
 C: inoculated 1×10^5 non-SP cells;
 D: inoculated 1×10^4 non-SP cells

已有研究报道^[8],多种正常干细胞和肿瘤干细胞都有能外排 Hoechst33342(一种 DNA 结合的荧光染料)的能力,具有这种能力的细胞被称为侧群细胞(Side population cell, SP 细胞)。最早在上个世纪 90 年代,Goodell 等^[8]发现,SP 细胞在造血潜能的干细胞中高表达;并且 SP 细胞具有干细胞的特性。SP 细胞群保留干细胞自我更新的潜能,但大部分时间处于沉默和静止状态,可能是肿瘤复发、组织更新的重要源头。SP 细胞在喉癌^[9]及细胞株^[10],前列腺癌^[11],平滑肌瘤^[12],卵巢癌^[13]及细胞株^[14],膀胱癌^[15],宫颈癌(细胞株)^[16],胶质细胞瘤^[17]及细胞株^[18],胰腺癌(细胞株)^[19],AML^[20],乳腺癌^[21],成神经细胞瘤^[22,23],卵巢癌^[24]及细胞株^[25],肝癌(细胞株)^[26],肺癌(细胞株)^[27],恶性黑色素瘤^[28],鼻咽癌(细胞株)^[29],肠癌(细胞株)^[30],胃癌(细胞株)^[31-33],中均含有 SP 细胞,已成功分离,且这些细胞表达某些干细胞样的特性。因此,本实验选择 SP 细胞为切入点来研究。

有研究证明在白血病和多发性骨髓瘤中,仅有 1/1000 或 1/10000 的肿瘤细胞能在体外克隆增殖^[2]。Kondo 等^[28]检测了恶

性肿瘤细胞的 SP 表型,发现 SP 细胞存在的不对称分裂方式类似干细胞,即 SP 细胞既可以分裂成 SP 细胞又可以分裂成非 SP 细胞,而非 SP 细胞只能分裂成非 SP 细胞,且增殖能力有限。大量实验证明,大部分肿瘤,只有当肿瘤细胞数大于 1×10^6 时才可形成肿瘤。而 Chiba 等^[26]发现只需 1×10^3 个 Huh7 和 PLC/PRF/5 细胞株的 SP 细胞就可以成瘤,而 1×10^6 个非 SP 细胞没有一只小鼠成瘤。迄今报道的成瘤性最强的是脑肿瘤干细胞^[24],仅接种 100 个 CD133⁺ 在 6 个月内就形成了肿瘤,而接种 10 万个 CD133⁻ 非肿瘤干细胞在相同时间内未能形成肿瘤。乳腺癌肿瘤干细胞也具有很强的成瘤性^[22],观察时间相同,在 NOD/SCID 小鼠体内接种 200 个 ESA⁺/CD44⁺/CD24^{-low} 乳腺癌肿瘤干细胞可形成肿瘤;而接种 1 万个 ESA⁺/CD44⁺/CD24^{-low} 乳腺癌非肿瘤干细胞未能形成肿瘤。按照肿瘤干细胞的理论,我们可以推测,口腔鳞癌的肿瘤细胞具有异质性,鳞癌中只有一小部分细胞具有强致瘤性,这一小部分就是口腔鳞癌的肿瘤干细胞。我们试验结果也很好的证明了这一点。

本研究得到以下结论:①口腔鳞状细胞癌细胞系 NTCR 中的 SP 细胞含量为 9.3%;②口腔鳞癌体外培养的 SP 细胞类似未分化的细胞,可分裂成 SP 细胞和非 SP 细胞,非 SP 细胞只能分裂成非 SP 细胞;③SP 细胞在细胞的增殖能力、自我更新能力及裸鼠体内成瘤能力等方面与干细胞特性相似,可以认为是肿瘤干细胞的富集。

本研究中两只注射 1×10^4 个 SP 细胞的裸鼠的一侧后肢未成瘤,查阅文献,究其原因,可能①SP 细胞中混入了非 SP 细胞,使得成瘤细胞数量减少;②观察时间有限,有文献报道观察成瘤时间达 6 个月的^[24];③SP 细胞只是肿瘤干细胞的富集,并不完全等同肿瘤干细胞,其中可能还含有一些非肿瘤干细胞表型的 SP 细胞。这就很好的提示我们,未来研究工作可重点放在肿瘤干细胞标志分子的筛选和确立、表型和基因型关系的探讨上。相信进一步深入研究,有可能作为口腔鳞癌诊断、治疗和预后的靶标。

参考文献(References)

- [1] Goodell M A, Brose K, Paradis G, et al. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo[J]. J Exp Med, 1996, 183(4): 1797-1806
- [2] Reya T, Morrison S J, Clarke M F, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells[J]. Nature, 2001, 414(6859): 105-111
- [3] Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy [J]. Crit Rev OncolHematol, 2004, 51(1): 1-28
- [4] Lovell-badge R. The future for stem cell research[J]. Nature, 2001, 414(6859): 88-91
- [5] Mackenzie I C. Growth of malignant oral epithelial stem cells after seeding into organotypical cultures of normal mucosa [J]. J Oral Pathol Med, 2004, 33(2): 71-78
- [6] Locke M, Heywood M, Fawell S, et al. Retention of intrinsic stem cell hierarchies in carcinoma-derived cell lines [J]. Cancer Res, 2005, 65(19): 8944-8950
- [7] Tabor MH, Clay MR, Owen JH, et al. Head and neck cancer stem cells: the side population[J]. The Laryngoscope, 2011, 121(3): 527-533
- [8] Goodell M A, Brose K, Paradis G, et al. Isolation and functional

- properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo[J]. J Exp Med, 1996, 183(4): 1797-1806
- [9] Yu D, Jin C, Liu Y, et al. Clinical implications of cancer stem cell-like side population cells in human laryngeal cancer [J]. Tumour Biol, 2013, 34(6): 3603-3610
- [10] Wan G, Zhou L, Xie M, et al. Characterization of side population cells from laryngeal cancer cell lines [J]. Head & Neck, 2010, 32(10): 1302-1309
- [11] Chen Y, Zhao J, Luo Y, et al. Isolation and identification of cancer stem-like cells from side population of human prostate cancer cells[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2012, 32(5):697-703
- [12] Mas A, Cervelló I, Gil-Sanchis C, et al. Identification and characterization of the human leiomyoma side population as putative tumor-initiating cells[J]. Ferti Steril, 2012, 98(3):741-751
- [13] Hu L, McArthur C, Jaffe RB. Ovarian cancer stem-like side-population cells are tumorigenic and chemoresistant [J]. British Journal of Cancer, 2010, 102(8):1276-1283
- [14] Kobayashi Y, Seino K, Hosonuma S, et al. Side population is increased in paclitaxel-resistant ovarian cancer cell lines regardless of resistance to cisplatin[J]. Gynecologic Oncology, 2011, 121(2):390-394
- [15] Chan KS, Volkmer JP, Weissman I. Cancer stem cells in bladder cancer: a revisited and evolving concept[J]. Curr Opin Urol, 2010, 20(5):393-397
- [16] Qi W, Zhao C, Zhao L, et al. Sorting and identification of side population cells in the human cervical cancer cell line HeLa [J]. Cancer Cell International, 2014, 14(1): 3
- [17] Golebiewska A, Bougnaud S, Stieber D, et al. Side population in human glioblastoma is non-tumorigenic and characterizes brain endothelial cells[J]. Brain, 2013, 136: 1462-1475
- [18] Fukaya R, Ohta S, Yamaguchi M, et al. Isolation of cancer stem-like cells from a side population of a human glioblastoma cell line SK-MG-1[J]. Cancer Letters, 2010, 291(2): 150-157
- [19] Yao J, Cai HH, Wei JS, et al. Side population in the pancreatic cancer cell lines SW1990 and CFPAC-1 is enriched with cancer stem-like cells[J]. Oncology Reports, 2010, 23(5): 1375-1382
- [20] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice [J]. Nature, 1994, 367(6464): 645-648
- [21] Al-hajj M, Wicha M S, Benito-hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(7): 3983-3988
- [22] Singh S K, Clarke I D, Hide T, et al. Cancer stem cells in nervous system tumors[J]. Oncogene, 2004, 23(43): 7267-7273
- [23] Singh S K, Clarke I D, Terasaki M, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors[J]. Cancer Res, 2003, 63(18): 5821-5828
- [24] Hu L, McArthur, Jaffe RB. Ovarian cancer stem-like side-population cells are tumorigenic and chemoresistant [J]. British Journal Of Cancer, 2010, 102(8): 1276-1283
- [25] Kobayashi Y, Seino K, Hosonuma S, et al. Side population is increased in paclitaxel-resistant ovarian cancer cell lines regardless of resistance to cisplatin[J]. Gynecologic Oncology, 2011, 121(2): 390-394

- [7] Chow TL, Louie AV, Palma DA. Radiation-induced lung injury after concurrent neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced breast cancer[J]. *Acta oncologica*, 2014, 53(5): 697-701
- [8] Wang BZ, Wang LP, Han H. Interleukin-17A antagonist attenuates radiation-induced lung injuries in mice [J]. *Experimental lung research*, 2014, 40(2): 77-85
- [9] Chauhan V, Howland M. Gene expression responses in human lung fibroblasts exposed to alpha particle radiation[J]. *Toxicology in vitro*, 2014, 28(7): 1222-1229
- [10] Rahman M, Lovat F, Romano G. miR-15b/16-2 Regulates Factors That Promote p53 Phosphorylation and Augments the DNA Damage Response following Radiation in the Lung [J]. *The Journal of biological chemistry*, 2014, 289(38): 26406-26416
- [11] Coates J, Ybarra N, El Naqa I. Non-invasive whole-body plethysmograph for assessment and prediction of radiation-induced lung injury using simultaneously acquired nitric oxide and lung volume measurements [J]. *Physiological measurement*, 2014, 35(9): 1737-1750
- [12] Piastra M, Yousef N, Brat R. Lung ultrasound findings in meconium aspiration syndrome [J]. *Early human development*, 2014, 90(Suppl 2): S41-43
- [13] Otani K, Nishiyama K, Ito Y. Steroid treatment increases the recurrence of radiation-induced organizing pneumonia after breast-conserving therapy[J]. *Cancer medicine*, 2014, 3(4): 947-953
- [14] Hu XY, Fang XM, Chen HW. Early detection of acute radiation-induced lung injury with multi-section CT perfusion imaging: An initial experience [J]. *Clinical radiology*, 2014, 69(8): 853-860
- [15] Zhang J, Li B, Ding X, et al. Genetic variants in inducible nitric oxide synthase gene are associated with the risk of radiation-induced lung injury in lung cancer patients receiving definitive thoracic radiation [J]. *Radiotherapy and oncology*, 2014, 111(2): 194-198
- [16] Wang J, Li ZH, White J. Lung cancer stem cells and implications for future therapeutics[J]. *Cell biochemistry and biophysics*, 2014, 69(3): 389-398
- [17] Lee CL, Lento WE, Castle KD. Inhibiting glycogen synthase kinase-3 mitigates the hematopoietic acute radiation syndrome in mice [J]. *Radiation research*, 2014, 181(5): 445-451
- [18] Zanardi E, Maruzzo M, Montesco MC. Response to trabectedin in a patient with advanced synovial sarcoma with lung metastases [J]. *Anti-cancer drugs*, 2014, 25(10): 1227-1230
- [19] Sullivan I, Salazar J, Majem M. Pharmacogenetics of the DNA repair pathways in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy[J]. *Cancer letters*, 2014, 353(2): 160-166
- [20] Aglietti L, Roila F, Tonato M. A pilot study of metoclopramide, dexamethasone, diphenhydramine and acupuncture in women treated with cisplatin [J]. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 2012, 26(3): 239-240

(上接第 3037 页)

- [26] Chiba T, Kita K, Zheng Y W, et al. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties[J]. *Hepatology*, 2006, 44(1): 240-251
- [27] Ho M M, Ng A V, 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
- [28] Luo Y, Ellis LZ, Dallaglio K, et al. Side population cells from human melanoma tumors reveal diverse mechanisms for chemoresistance[J]. *The Journal Of Investigative Dermatology*, 2012, 132(10):2440-2450
- [29] Hoe SL, Tan LP, Jamal J, et al. Evaluation of stem-like side population cells in a recurrent nasopharyngeal carcinoma cell line[J]. *Cancer Cell International*, 2014, 14(1): 101
- [30] Xie ZY, Lv K, Xiong Y, et al. ABCG2-mediated multidrug resistance and tumor-initiating capacity of side population cells from colon cancer [J]. *Oncology Research And Treatment*, 2014, 37(11): 666-668, 670-672
- [31] Schmuck R, Warneke V, Behrens HM, et al. Genotypic and phenotypic characterization of side population of gastric cancer cell lines[J]. *The American Journal Of Pathology*, 2011, 178(4):1792-1804
- [32] Li R, Wu X, Wei H, et al. Characterization of side population cells isolated from the gastric cancer cell line SGC-7901 [J]. *Oncology Letters*, 2013, 5(3): 877-883
- [33] Zhang, Cai AZ, Wei XM, et al. Retraction note to: Characterization of cancer stem-like cells in the side population cells of human gastric cancer cell line MKN-45[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2014, 15(11): 1012
- [34] Singh S K, Hawkins C, Clarke I D, et al. Identification of human brain tumour initiating cells[J]. *Nature*, 2004, 432(7015): 396-401