

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.01.041

肿瘤干细胞及其模型的研究现状及临床治疗最新进展*

吴兆利 李华栋 杨 光 刘怀垒 申 忱 邓一帆 彭 飞 高大登 尹 飞
赵博贤 赵世光[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院神经外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:癌症发生最有名的模型之一肿瘤 CSCcancer stem cell(CSC)模型已经被确立为一种细胞机制,有助于体现不同类型的肿瘤表型和功能的异质性。然而,最新研究突出显示了肿瘤 CSC 模型的复杂性和挑战性;CSC 表型在不同的病人间有本质上的不同,肿瘤可能含有多种表型或遗传上不同的 CSC,转移的肿瘤 CSC 可能由原始肿瘤 CSC 进展而来,肿瘤细胞可进行可逆的表型的改变。虽然在特定情况下,肿瘤 CSC 的概念具有临床相关性,但越来越多的证据表明,定位、鉴定出肿瘤灶中所有亚型的肿瘤 CSC 将对临床上预防肿瘤复发具有特殊意义。有以下几个因素可以促使异质性的发生:基因突变,后生的变化,与微环境间的相互作用以及存在或缺失细胞分级等。肿瘤异质性可以用不同的细胞机制来解释。虽然 CSC 具有 CSC 自我更新和分化的特性,但是它们不一定是正常组织 CSC 转化而形成的。这种 CSC 模型引起了科研工作者广泛的关注,我们结合新近的相关文献综述如下。

关键词:肿瘤干细胞;表型;治疗策略;异质性

中图分类号:R730.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)01-178-03

The Cancer Stem Cell (CSC) and CSC Model*

WU Zhao-li, LI Hua-dong, YANG Guang, LIU Huai-lei, SHEN Chen, DENG Yi-fan, PENG fei, GAO Da-deng, YIN Fei,
ZHAO Bo-xian, ZHAO Shi-guang[△]

(Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: The cancer stem cell (CSC) model has been established as a cellular mechanism that contributes to phenotypic and functional heterogeneity in diverse cancer types. Recent observations, however, have highlighted many complexities and challenges: the CSC phenotype can vary substantially among patients, tumors may harbor multiple phenotypically or genetically distinct CSC, metastatic CSC can evolve from primary CSC, and tumor cells may undergo reversible phenotypic changes. Although the CSC concept will have clinical relevance in specific cases, accumulating evidence suggests that it will be imperative to target all CSC subsets within the tumor to prevent relapse. The following factors can cause the occurrence of heterogeneity: gene mutations, epigenetic changes, and the interaction between the microenvironment and the presence or absence of cell fractionation. Tumor heterogeneity can be explained by different cellular mechanisms. Although CSC has the characteristics of self-renewal and differentiation, they are not necessarily the conversion of normal tissue CSC formed. Scientists concerned about the cancer stem cell (CSC) model. We combine recent literature review are as follows.

Key words: Cancer Stem Cells; Phenotype; Therapeutic Strategies; Heterogeneity

Chinese Library Classification(CLC): R730.2 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2015)01-178-03

前言

癌症发生最有名的模型之一肿瘤 CSCcancer stem cell (CSC)模型已经被确立为一种细胞机制,有助于体现不同类型的肿瘤表型和功能的异质性^[1]。然而,最新研究突出显示了肿瘤 CSC 模型的复杂性和挑战性;CSC 表型在不同的病人间有本质上的不同,肿瘤可能含有多种表型或遗传上不同的 CSC,转移的肿瘤 CSC 可能由原始肿瘤 CSC 进展而来,肿瘤细胞可进

行可逆的表型的改变。虽然在特定情况下,肿瘤 CSC 的概念将有临床相关性,越来越多的证据表明,定位、鉴定出肿瘤灶中所有亚型的肿瘤 CSC 将是临床上预防肿瘤复发所必须的。

表型和功能的异质性是白血病和很多实体肿瘤一个定义性特征。有以下几个因素可以促使异质性的发生如:基因突变,后生的变化,与微环境间的相互作用以及存在或缺失细胞分级等。肿瘤异质性可以用不同的细胞机制来解释。获得性遗传或后天改变支持克隆演化理论,该理论认为这些 CSC 细胞在占

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81172388;30901533;30973078;81272788)

作者简介:吴兆利(1986-),男,硕士研究生,主要从事脑胶质瘤的研究工作,电话:0451-85555254,E-mail:434724591@qq.com

[△]通讯作者:赵世光,男,博士,教授,主任医师,博士生导师,主要从事脑胶质瘤临床和基础的研究工作,

电话:0451-85555847,E-mail: guangsz@hotmail.com

(收稿日期:2014-06-17 接受日期:2014-07-05)

优势的细胞克隆群拥有较强的致瘤潜能^[2]。相反的,肿瘤 CSC 模式假定了一种细胞等级结构即:只有一小部分细胞集簇能致使肿瘤形成及在维持原发性肿瘤固有异质性中发挥作用。虽然 CSC 具有 CSC 自我更新和分化的特性,但是它们不一定是正常组织 CSC 转化而形成的。这种 CSC 模型引起了科研工作者广泛的关注,因为它可以解释肿瘤对放疗、化疗的抵制及肿瘤的最终复发的原因。再者,处于静止的、缓慢的细胞周期中的 CSC 通常是可以抵抗干预治疗并生存下来的从而最终导致肿瘤复发。虽然在一些肿瘤中明确了 CSC 的存在,但是 CSC 模型是无法对所有肿瘤的功能异质性做出解释的。

近年来,科研人员提出肿瘤 CSC 学说认为^[3]:肿瘤组织存在着极少量 CSC 样细胞,它们可以不断增值,自我更新,并具有多向分化潜能,在启动肿瘤形成和生长中起到决定性作用,而其余大多数细胞经过短暂分化,最终死亡。

1 不同肿瘤 CSC 标志物有差异

在许多种富于 CSC 子集的实体瘤中许多标志物被证实是有一定特异性的包括:CD133、CD44、EpCAM 及活化的 ALGH;人类白血病的标志物包括:CD34、CD38 和 IL3Ra。必须注意的是上述没有一个标记物是唯一由 CSC 表达的。随着细胞不断的传代,在相同亚型的不同肿瘤病人中 CSC 的显性呈现出越来越明显的多样化,这种现象增加了凭 CSC 标志物对评估患者临床预后的难度。CD133 是一种细胞表面蛋白,它作为 CSC 标志物而被科研人员广泛研究。CD133 最初被认为是多形性胶质母细胞瘤的 CSC 标志物^[4]。此外,与表型相匹配的原发性胶质母细胞瘤 CSC 和非肿瘤 CSC 在体内相同的微环境中表明,只有 CD133 阳性的子集具有保持肿瘤发生和产生异质性的能力^[5]。然而 CD133 并不总是 CSC 的标志物,它可能受到外源性因子的调控。所以,我们就需要寻找表达更稳健的胶质母细胞瘤及其他的脑肿瘤中 CSC 标志物如:SSEA-1/CD15/Lewis X 及 $\alpha 6$ -integrin。SSEA-1(阶段特异性胚胎抗原)在人类胶质母细胞瘤和标识同基因小鼠模型的髓母细胞瘤中证实为 CSC 标志物^[6]。尽管这些标本中很大的比例缺乏 CD133⁺ 的细胞,但是 SSEA-1 在几乎所有人胶质母细胞瘤 CSC 中都能检测高于非 CSC100 倍的指标^[7]。另一种方法,Rich 和他的同事研究了大脑肿瘤 CSC 所在的血管周围微环境,并确定了 $\alpha 6$ -integrin 作为 CSC 标志物^[2]。科研人员还发现在部分肿瘤中存在 CD133 和 $\alpha 6$ -integrin 的共表达。CSC 的表型之间明显的有限的重叠使 CSC 在相同的肿瘤类型被分离开。在大肠癌中,EpCAMhiCD44⁺ CSC 亚群与 CD133 拥有轻微的重叠^[8];在胰腺癌中,CD133⁺ 和 CD44⁺ CD24⁺ 群体之间的重叠在样本间差异很大^[9];在卵巢癌中,引人注目的一点发现是 CD133 和卵巢已报道的 CSC 标志物 CD117,CD44,ALDH1 活动有一致性^[9]。

2 CSC 表型的不稳定性(转移性 CSC 与初级 CSC 不同)

有报道称,在原发的肿瘤细胞样本和它们转移的肿瘤细胞样本的免疫表型有本质的区别。大多数原发的浆液性卵巢癌中存在 CD133⁺ 阳性的 CSC,而大多数转移的浆液性卵巢癌包含有相当多数量的 CD133⁻ 的肿瘤细胞^[10]。原发瘤与转移瘤间标

志物存在显著差异表明,肿瘤的基因变化是推动肿瘤的进展主要的因素之一。这些数据不仅反映了肿瘤增殖过程中的异质性,还可以表明 CSC 在转移过程中表型可能也是不稳定的。尽管 CSC 的变异频率在一些卵巢癌和乳腺癌的转移瘤中是恒定的,但是科研人员发现该频率的 CSC 在连续的移植中频率增加。再者,与晚期肿瘤相比 CSC 模型的异质性可能更容易适用早期肿瘤,早期肿瘤中占优势的克隆形式可能促使肿瘤进展^[11]。因而,加强对早期肿瘤传代通路的研究是十分有必要的。转移性 CSC 可能与初级 CSC 相同也可能不同。原发肿瘤 CSC 的子集可能含有与肿瘤繁殖和/或转移能力的 CSC 子集。在乳腺癌中以 CD44 表达为特点的原始肿瘤 CSC 是直接参与肿瘤转移过程的^[12]。同样,在结直肠癌中,转移几乎是具有长期自我更新能力的 CSC 的唯一属性^[13]。在胰腺癌中,只有 CD133⁺CXCR 4⁺ 的细胞(而不是 CD133⁺CXCR4⁻ 细胞)拥有转移活性,尽管这两种 CSC 子集均具有肿瘤增殖能力^[14]。而且,抑制 CXCR4 信号在没有改变其致瘤潜力的前提下极大地减少胰腺癌肿瘤的转移潜能。转移性的 CSC 可能从原发肿瘤 CSC 演变而来,或者从肿瘤内非 CSC 而来。

3 CSC 和其生存微环境的关系

癌症是由恶性肿瘤细胞及炎症细胞、造血细胞、相关的基质和血管共同构成的。虽然一些 CSC 不需要一个特定的生存环境,很多的 CSC 是依赖于专门的生存微环境的。微环境对肿瘤细胞的影响可以是诱发性的或选择性的,但是这种影响对于每一个肿瘤亚型是有差异的。脑 CSC 血管周围的微环境位是迄今为止最典型的案例^[15]。在一些胶质母细胞瘤中,CSC 和局部环境之间的关系似乎是双向的:微环境可以改变癌细胞的生长和转归,相反的 CSC 也可以改变自己的微环境^[2]。事实上,胶质母细胞瘤的 CSC 被证实会分泌血管内皮生长因子(VEGF),VEGF 可以促进局部肿瘤血管的生长^[14]。相反的,血管内皮细胞会分泌一氧化氮从而诱导胶质瘤细胞中的 Notch 信号^[15]。与之相关的是,在脑胶质瘤中 CSC 依赖于一氧化氮合酶 2,而非 CSC 并不依赖于一氧化氮合酶^[16]。有趣的发现是,在胶质母细胞瘤的 CSC 可以转化为血管细胞直接促进微血管系统的形成^[17],这种现象强调了大脑 CSC 和它们微环境之间的密切关系。在皮肤鳞状细胞癌中,CSC 血管周围微环境也起到了至关重要的作用。CSC 在这血管微环境中建立了一个自分泌系统,其中血管内皮生长因子(VEGF)通过管理微环境和内在 CSC 的自我更新途径来促进 CSC 活动^[18]。肿瘤内的与肿瘤相关的基质细胞,如肌成纤维细胞,可以调控许多类型的肿瘤 CSC 的稳态。在大肠癌,肌纤维母细胞分泌肝细胞生长因子(HGF),通过激活功能 Wnt 信号通路保持 CSC 的能活性。有趣的是,有活性 Wnt 信号经典通路的肿瘤细胞优先于位于相邻间质的肌纤维母细胞^[19]。此外,肝细胞生长因子介导的 Wnt 信号通路的激活可诱导在癌细胞分化中 CSC 的功能和成瘤能力。虽然这些研究中使用的原发结直肠癌的培养细胞,而不是新鲜的病人标本,他们认为微环境可以调控肿瘤细胞 "CSC 特性"。

4 目标 CSC 的临床治疗策略

从临床的角度来看,研究清楚 CSC 抵抗放、化疗的机制是

很重要的。科研人员发现静止期 CSC 是更能抵抗治疗的,大多 CSC 似乎可以通过自身的细胞活性机制逃避细胞毒性药物或放射治疗。有临床证据表明很多实体肿瘤中存在化疗耐药的"CSC"亚群,其中包括乳腺癌^[2]。此外,从患者预先给予内分泌治疗或细胞毒性药物治疗的乳房组织分析基因表达的变化表明,残留的乳房癌肿瘤组织中可能富集 CSC 样和有间质的特征的肿瘤细胞^[20]。有 del(5q)的骨髓增生异常综合征的患者,在缓解期中发现少数抵抗靶向治疗的 CSC,这很可能是骨髓增生异常综合征患者复发的原因^[21]。最近科研人员从不同层面探讨 CSC 的不同机制包括:静止期,自我更新的途径,抗放射线及 CSC-特异的细胞表面分子。CSC 与正常的干细胞的活性是有差别的。在临床前期模型中必须要仔细评估抗 -CSC 药物对正常 CSC 功能的毒性作用。BMPs(形态形成蛋白)能有效地诱导胶质母细胞瘤中神经胶质细胞的分化和抑制肿瘤细胞的生长^[22]。大量的基因突变所产生的实体肿瘤如胸腺瘤中^[23],研究清楚 CSC 影响肿瘤各种复杂的途径将是非常有必要的。静止状态或休眠是很多 CSC 的一个特性。利用此特性可以提供一窗口平台期,用于干预性治疗。细胞因子如 G-CSF 可以有效诱导 AML 中处于静态的 LSC 进入细胞分裂周期,这样可以增加肿瘤细胞对于不同的化疗药物敏感性^[24]。事实上,G-CSF 结合化疗药物可以强烈诱导的细胞凋亡从而根除体内的人类白血病 CSC。在胶质母细胞瘤中,CSC 积极自我更新和细胞多样性是最有可能通过相称性的细胞分裂产生的^[25]。我们需要研究出通过一些特定的靶向治疗途径来抑制 CSC 的分裂和生长。科研人员还观察到小鼠乳腺 CSC 出现比正常乳腺进行更频繁的对称分裂^[26]。给予人类和小鼠白血病中应用药物抑制 Hh 途径,抑制了伊马替尼耐药的慢性髓细胞性白血病的生长。这些研究结果有深刻的影响,因为他们认为可以通过针对 Hh 途径达到对伊马替尼耐药的慢性粒细胞白血病患者复发的治疗。然而,因为 Hh 途径活动是维护正常的造血干细胞所必需的,我们需要确定这些抗癌剂是否有对正常 HSC 功能的各方面的副作用。一些研究强调了在实体肿瘤中 CSC 的抗辐射,特别是在脑肿瘤。在新鲜胶质母细胞瘤标本或神经胶质瘤转移瘤中,CSC 在体内比非 CSC 更能抵抗电离辐射(IR),因为 CSC 增强了自身的 DNA 损伤修复功能^[27]。对于髓母细胞瘤,给予 Akt 抑制剂可以增强血管周围区域的肿瘤细胞对放射线的敏感性,增加治疗效果。

5 小结与展望

近年来,肿瘤干细胞学说是研究肿瘤发生的热门领域之一,而且科研人员已经从很多种类型的恶性肿瘤中分离、培养出了很多种肿瘤干细胞。针对肿瘤干细胞特异性的靶向治疗方法也是现阶段及以后很长一段时间研究的重点,比如:如何破解肿瘤干细胞对于放化疗的抵抗问题;在新型药物研发方面,利用小分子高通量的 miRNA 或 siRNA 库可能成为一个有效的突破口。而且,对于肿瘤干细胞及其模型范畴在某些方面还有待进一步的定性和统一。目前,科研人员在该领域正在形成的重要共识是:当鉴定一个 CSC 时"细胞状态"比表型是更重要的。患者间 CSC 标记物高度变异的一个必然结果是,一系列的标记物将需要在一个大的患者样本的数量中验证出来,甚

至可能需要对每个病人进行功能评估。迄今为止,在临床前模型大多的抗 -CSC 的治疗方法只是起到抑制实体瘤而不是消除肿瘤的作用,并且往往需要和其他化疗药物才能起到如此有效反应。为了提高抗 -CSC 剂在临床试验中疗效,迫切需要优化检测目标 CSC 的定性和衡量肿瘤治疗后的反应情况。在标准临床试验中,肿瘤的治疗反应标准取决于测量肿瘤的大小,这在很大程度上反映在非 CSC 肿瘤体积的肿瘤治疗反应。我们推测,对于大多数类型的肿瘤,测试新的抗 -CSC 疗法结合常规化学疗法(非 -CSC)治疗仍然会被证明是必要的。

参考文献(References)

- [1] Anderson, K Lutz, Cvan Delft, et al. Genetic variegation of clonal architecture and propagating cells in leukaemia [J]. *Nature*, 2011,469: 356-361
- [2] Barroca, V Lassalle, B Coureuil, et al. Mouse differentiating spermatogonia can generate germinal stem cells in vivo [J]. *Cell Biol*, 2009,11:190-196
- [3] Beck B, Driessens G, Yousse K, et al. A vascular niche and a VEGF-Nrp1 loop regulate the initiation and stemness of skin tumours [J]. *Nature*, 2011, 478:399-403
- [4] Singh SK, Hawkins Hide, THenkelman RM, et al. Identification of human brain tumour initiating cells[J]. *Nature*, 2004, 432:396-401
- [5] Lathia, J D Gallagher, Vasanji, et al. Direct in vivo evidence for tumor propagation by glioblastoma cancer stem cells[J]. *PLoS ONE*, 2011,6: 99-103
- [6] Read, T AFogarty, McLendon, et al. Identification of CD15as a marker for tumor-propagating cells in a mouse model of medulloblastoma[J]. *Cancer Cell*, 2009,15:135-147
- [7] Son, MJ Woolard, K Nam. SSEA-1 is an enrichment marker for tumor-initiating cells in human glioblastoma[J]. *Cell Stem Cell*, 2009,4: 440-452
- [8] Krivtsov, A V Twomey, D Feng, et al. Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9 [J]. *Nature*, 2006,442: 818-822
- [9] Dalerba, P Dylla, Wang X, et al. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells [J]. *Proc Natl. Acad Sci USA*, 2007,104: 10158-10163
- [10] Hermann, P C Herrler, T Aicher, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. *Cell Stem Cell*, 2007,1:313-323
- [11] Curley, M D Therrien, V A Cummings, et al. CD133 expression defines a tumor initiating cell population in primary human ovarian cancer[J]. *Stem Cells*, 2009, 27:2875-2883
- [12] Stewart, B ernardini, Ailles. Phenotypic heterogeneity and instability of human ovarian tumor initiating cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011,108:6468-6473
- [13] Boiko, A D Razorenova. Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271[J]. *Nature*, 2010,466: 133-137
- [14] Liu, H Patel, M R Prescher, et al. Cancer stem cells from human breast tumors are involved in spontaneous metastases in orthotopic mouse models[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010,107:18115-18120

(下转第 194 页)

- CD4+effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages[J]. *Nat Immunol*, 2005,6(11): 1123-1132
- [25] Schnyder B, Schnyder-Candrian S, Pansky A, et al. IL-17 reduces TNF-induced Rantes and VCAM-1 expression [J]. *Cytokine*, 2005,31(3): 191-202
- [26] McAllister F, Henry A, Kreindler JL, et al. Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene-alpha and granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis [J]. *J Immunol*, 2005, 175(1): 404-412
- [27] Mavroudis D, Bolonakis I, Cornet S, et al. A phase I study of the optimized cryptic peptide TERT (572y) in patients with advanced malignancies[J]. *Oncology*, 2006,70(4): 306-314
- [28] Bolonaki I, Kotsakis A, Papadimitraki E, et al. Vaccination of patients with advanced non-small-cell lung cancer with an optimized cryptic human telomerase reverse transcriptase peptide[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(19): 2727-2734
- [29] Elela MA, Hegazy RA, Fawzy MM, et al. Interleukin 17, Interleukin 22 and FoxP3 expression in tissue and serum of non-segmental vitiligo: A case- controlled study on eighty-four patients [J]. *Eru J Dermatol*, 2013
- [30] Duan MC, Huang Y, Zhong XN, et al. Th17 cell enhances CD8 T-cell cytotoxicity via IL-21 production in emphysema mice [J]. *Mediators Inflamm*, 2012,2012:898053
- [31] Wei L, Laurence A, Elias KM, et al. IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner[J]. *J Biol Chem*, 2007,282(48): 34605-34610
- [32] Korn T, Bettelli E, Gao W, et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce pro- inflammatory T (H)17 cells [J]. *Nature*, 2007,448(7152): 484-487
- [33] Zhou L, Ivanov II, Spolski R, et al. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways[J]. *Nat Immunol*, 2007,8(9): 967-974
- [34] Nurieva R, Yang XO, Martinez G, et al. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells [J]. *Nature*, 2007,448(7152): 480-483
- [35] Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. T (H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity[J]. *Nat Immunol*, 2007,8(4): 345-350
- [36] Gao B. Cytokines, STATs and liver disease [J]. *Cell Mol Immunol*, 2005,2(2): 92-100
- [37] Chou CH, Lai SL, Chen CN, et al. IL-6 Regulates Mcl-1L Expression through the JAK/P13K/Akt/CREB Signaling Pathway in Hepatocytes: Implication of an Anti-Apoptotic Role during Liver Regeneration[J]. *PLoS One*, 2013,8(6): e66268
-
- (上接第 180 页)
- [15] Dieter, C R Hoffmann, Herbst, et al. Distinct types of tumor-initiating cells form human colon cancer tumors and metastases [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 9:357-365
- [16] Hermann, PC Huber, S L Herrler, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. *Cell Stem Cell*, 2007,1:313-323
- [17] Gilbertson, Rich J N. Making a tumour's bed: glioblastoma stem cells and the vascular niche. *Nat. Rev[J]. Cancer*, 2007,7:733-736
- [18] Heddleston, McLendon, R E Hjelmeland. The hypoxic microenvironment maintains glioblastoma stem cells and promotes reprogramming towards a cancer stem cell phenotype [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8: 3274-3284
- [19] Charles, Ozawa, T Squatrito, et al. Perivascular nitric oxide activates notch signaling and promotes stem-like character in PDGF-induced glioma cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 6:141-152
- [20] Eyler, C E Wu, MacSwords, et al. Glioma stem cell proliferation and tumor growth are promoted by nitric oxide synthase-2 [J]. *Cell*, 2011,146:53-66
- [21] Ricci-Vitiani, L Pallini, R Biffoni, et al. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stemlike cells [J]. *Nature*, 2010,468:824-828
- [22] Ozawa, T Squatrito, Goossens, et al. A vascular niche and a VEGF-Nrp1 loop regulate the initiation and stemness of skin tumours [J]. *Nature*, 2011,478:399-403
- [23] Vermeulen, L De Sousa E Melo, F van der Heijden, et al. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment[J]. *Nat Cell Biol*, 2010,12:468-476
- [24] Li X Lewis, M T Huang, J Gutierrez, et al. Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy [J]. *Natl Cancer Inst*, 2008,100:672-679
- [25] Creighton, X Landis, M Dixon, et al. Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009,106:13820-13825