



**杨恭**，博士、教授、博士生导师。目前双聘于复旦大学附属肿瘤医院和上海市第五人民医院。主要从事妇科肿瘤和乳腺肿瘤发生、复发和转移的相关研究。在正常卵巢上皮细胞永生化和转化、RAS相关细胞因子及其受体、DNA损伤修复、肿瘤微环境和细胞衰老、基因组稳定性以及NF- $\kappa$ B相关基因转录调控等方面具有较为深入的研究，先后发表相关论文30多篇，其中以第一（包括并列第一）或通讯作者发表SCI研究论文14篇，主要杂志为*JNCI*、*PNAS*、*CCR*、*Oncogene*、*Carcinogenesis*、*IJC*、*EJC*、*JBC*、*PLoS One*、*Tumor Biology*等。现主持国家自然科学基金、教育部课题和上海市科委课题5项。

## 乳腺癌干细胞的研究进展

刘明明 杨恭

复旦大学附属肿瘤医院肿瘤研究所，上海市乳腺癌重点实验室  
复旦大学上海医学院肿瘤学系，上海 200032

**[摘要]** 乳腺癌干细胞是一类具有自我更新能力、多向分化潜能和高度致瘤能力的细胞亚群，与乳腺癌的发生、发展、复发、转移以及治疗抵抗等密切相关。现就近年来乳腺癌干细胞的研究进展作一综述。

**[关键词]** 乳腺癌； 干细胞； 信号通路； 小干扰RNA

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.08.011

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1007-3639(2013)08-0624-08

**The recent advances in breast cancer stem cells** LIU Ming-ming, YANG Gong (Cancer Institute, Fudan University Shanghai Cancer Center, the Key Laboratory of Breast Cancer of Shanghai, Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: YANG Gong E-mail: yanggong@fudan.edu.cn

**[Abstract]** Breast cancer stem cells comprise a sub-population, which enables the capacity for self-renewal and the potentiality for differentiation and high tumorigenicity. Growing evidence suggests that breast cancer stem cells most likely contribute to tumor generation, progression, relapse, metastasis and therapeutic resistance. Herein, the recent advances in breast cancer stem cells were highlighted in this review.

**[Key words]** Breast cancer; Stem cell; Signaling pathway; miRNA

### 1 概述

乳腺癌是严重威胁妇女健康的恶性肿瘤之一，发病率居女性癌症第一位。全世界每年约有130万新发病例，50万死亡病例。近年来，我国乳腺癌发病率增长明显，目前国内患者人数已超过50万。约30%的早期乳腺癌患者经过严格治疗之后，仍然会发生复发和转移。对于首诊时已经发生转移的乳腺癌患者，传统化疗药物起初效

果较为明显，但一段时间之后大多数患者会复发<sup>[1]</sup>。越来越多的研究表明，乳腺癌细胞中存在一部分具有自我更新、多向分化潜能以及高度致瘤能力的细胞亚群，称为乳腺癌干细胞(breast cancer stem cells)。由于乳腺癌干细胞与肿瘤的侵袭转移、复发和治疗抵抗密切相关，故已成为目前研究的热点和难点。现就近期乳腺癌干细胞的分离和鉴定、乳腺癌干细胞的来源、调节乳腺癌干细胞的信号通路、乳腺癌干细胞与小RNA、

肿瘤微环境、治疗抵抗等方面的研究进展作一综述。

## 2 乳腺癌干细胞的分离和鉴定

### 2.1 生物标志物法

利用生物标志物(biomarker)进行肿瘤干细胞分离和鉴定,并在免疫缺陷鼠模型上验证致瘤能力,是广泛应用的肿瘤干细胞分离和鉴定方法。Al-Hajj等<sup>[2]</sup>在2003年首次发现并分离了乳腺癌干细胞,并运用细胞表面标志物ESA<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>在乳腺肿瘤细胞中筛选出一个细胞亚群,这一细胞亚群不表达CD2、CD3、CD10、CD16、CD18、CD31、CD64和CD140b等谱系标志(Lin<sup>-</sup>),同时在体内具有极强的致瘤和侵袭转移能力。将200个ESA<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>或1 000个CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>细胞接种在联合重症免疫缺陷小鼠(NOD/SCID mice)上,即可形成肿瘤。相反,未经细胞表面标志筛选的乳腺肿瘤细胞,至少需要50 000个才能在NOD/SCID小鼠上形成肿瘤。目前,CD44、CD24、ESA已经成为广泛认可的乳腺癌干细胞标志物。

乙醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)的主要作用是氧化细胞内的乙醛,起到解毒的作用。Ginestier等<sup>[3]</sup>的研究表明,ALDH也可以作为正常干细胞和肿瘤干细胞的标志物。利用ALDEFLUOR荧光检测技术测定细胞中ALDH活性,或通过免疫组化检测ALDH的表达水平,可以鉴别和筛选正常干细胞和肿瘤干细胞。与ESA<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>细胞类似,500个ALDH<sup>+</sup>的乳腺癌干细胞就能在NOD/SCID小鼠体内形成肿瘤,而即使接种50 000个ALDH<sup>-</sup>的乳腺癌细胞也不能形成肿瘤。ALDH和CD44/CD24这两类标志物有部分重叠,在NOD/SCID小鼠上接种20个ALDH<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>/Lin<sup>-</sup>乳腺癌细胞就可以形成肿瘤<sup>[3]</sup>,这也说明联合多个细胞标志物进行筛选所得到的细胞亚群可能更加接近肿瘤干细胞<sup>[4]</sup>。在HER-2阳性和三阴性乳腺癌细胞中,ALDH<sup>+</sup>细胞的比例更高,而ALDH的表达水平也与患者预后呈负相关<sup>[5-7]</sup>。

另一个筛选和鉴别乳腺癌干细胞的方法是使用荧光染料PKH26,这种荧光染料能选

择性标记静止状态的细胞,以区别分裂期的细胞<sup>[7]</sup>。因此,利用PKH26染料进行细胞筛选,再通过鼠移植瘤模型进行致瘤能力验证,可以筛选出乳腺癌干细胞。Pece等<sup>[7]</sup>的研究结果表明,PKH26阳性细胞可以形成基底和Luminal两种细胞,并且可以在去除脂肪垫的免疫缺陷鼠上重塑乳腺,PKH26阴性细胞则不能。

### 2.2 利用乳腺微球(mammosphere)模型筛选

乳腺微球筛选模型是应用最为广泛的干细胞筛选及鉴别方法。在含有成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、谷氨酰胺的无血清培养液中,乳腺上皮细胞中未分化的干细胞或祖细胞可以悬浮生长并形成乳腺微球,而已经分化的细胞则不能正常生长。正常干细胞的这一特性也可以用于筛选和鉴别乳腺癌干细胞。研究表明,在乳腺癌细胞培养得到的乳腺微球中,表型为CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>/Lin<sup>-</sup>的乳腺癌干细胞比例增大<sup>[8]</sup>。

此外,分离、鉴别乳腺癌干细胞的方法还有侧群分离技术<sup>[9]</sup>、免疫磁珠分选法<sup>[10]</sup>以及动物体内模型鉴定<sup>[11]</sup>等。

## 3 乳腺癌干细胞的来源

关于乳腺癌干细胞的来源,还存在争议。目前有两种不同但也互不矛盾的理论。一种理论认为,肿瘤干细胞来源于正常乳腺干细胞。调控正常干细胞自我更新和分化的信号通路发生异常,导致了乳腺癌干细胞的产生,也同时具备正常乳腺干细胞自我更新和分化潜能。支持这一观点的依据主要是正常乳腺干细胞和乳腺癌干细胞之间的相似性,以及正常乳腺干细胞在漫长的生命周期中,容易发生突变而使得癌基因激活<sup>[12]</sup>。Al-Hajj等<sup>[2]</sup>认为,乳腺癌干细胞可能起源于乳腺基底部的干细胞或先驱细胞,因为乳腺基部细胞表面信息和他们发现的乳腺癌干细胞具有高度的相似性。另一种观点认为,乳腺癌干细胞是由已经分化的体细胞经上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)而产生。EMT是一种细胞表型改变的生理现象。在生理性EMT过程中,上皮细胞之间以及上皮细胞与基质之间的连接断裂,上

皮细胞迁移至身体的其他位置, 到达预定地点后, 又会经历与EMT相反的过程(间质-上皮转化, MET)<sup>[13]</sup>。生理性EMT在胚胎发育、机体愈合等过程中都起到重要作用<sup>[13]</sup>。越来越多的证据表明, EMT与乳腺癌干细胞的形成、侵袭和转移具有密切联系。研究发现, TGF- $\beta$  1等细胞因子和Twistor、Snail家族的多种转录因子可以诱导乳腺上皮细胞发生EMT。EMT过程显著促进了肿瘤的侵袭和转移<sup>[14-15]</sup>。Mani等<sup>[16]</sup>发现, 人和鼠的正常乳腺上皮细胞经TGF- $\beta$  1处理, 或在细胞中诱导表达Twistor、Snail家族的转录因子可诱导EMT过程, 上皮细胞转变成间质细胞形态, 并且表达波形蛋白和迁连蛋白等间质细胞标志物, 同时细胞表型变为干细胞的CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表型。这些细胞在体外形成乳腺微球的能力和在体内的致瘤能力都显著增强。Morel等<sup>[17]</sup>发现, 激活Ras/MAPK信号传导通路可以诱导乳腺上皮细胞发生EMT, 细胞转变成间质形态, 同时E-cadherin蛋白表达减少, 波形蛋白表达增加, 细胞表型由CD44<sup>-</sup>/CD24<sup>+</sup>变为CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>, 形成乳腺微球等干细胞活性增强。这些研究结果均提示乳腺癌干细胞可能是在EMT过程中, 由已分化的正常乳腺上皮细胞产生, 但其机制目前尚未完全阐明。

#### 4 调控乳腺癌干细胞的信号通路

与正常乳腺干细胞类似, Wnt、Notch、Hedgehog和Bmi等几条信号通路被认为是调控了乳腺癌干细胞的自我更新和分化。有观点认为, 正是这几条信号通路发生突变, 导致了乳腺癌干细胞的产生<sup>[7, 18]</sup>。而这几条信号通路中的相关基因或蛋白可能成为靶向乳腺癌干细胞的治疗靶点<sup>[19]</sup>。

$\beta$ -catenin是Wnt信号通路中的重要组成部分。Kalluri等<sup>[20]</sup>研究发现,  $\beta$ -catenin在细胞中表达的位置不同时, 呈现出两种不同的作用。在细胞膜表面, 与E-cadherin相互作用, 保持上皮细胞之间的相互黏附, 是EMT的标志物之一。而细胞质中的 $\beta$ -catenin可以进入细胞核, 与T细胞转录因子(TCF)形成复合物, 激活了Wnt信号通路和下游基因的转录, 下游基因包

括c-Jun、c-Myc、fibronectin、cyclin D1和Notch信号通路中的配体Jagged-1。Lee等<sup>[21]</sup>报道, polycomb家族的Mel-18(一种转录抑制因子)可以通过抑制PI3K/AKT信号通路阻滞细胞周期、抑制Bmi-1(B lymphoma Mo-MLV insertion region 1 homolog)的表达。而敲除乳腺癌细胞系(MCF-7、SKBR3)中的Mel-18可以增强乳腺癌干细胞的自我更新和致瘤能力。Won等<sup>[22]</sup>研究表明, Mel-18的缺失可以激活Wnt/ $\beta$ -catenin/TCP通路, 增加下游靶基因Jagged-1的转录及表达, Jagged-1激活Notch信号通路, 增强了乳腺癌干细胞样活性。

Notch信号通路的结构保守, 由Notch1~4的4种受体, 和Delta1~4, Jagged-1、2的6种配体组成。Notch配体与邻近细胞的Notch受体结合能促进受体胞内部分(Notch intracellular domain, NICD)的断裂, NICD进入细胞核作用于下游靶基因, 促进了靶基因的转录和表达。Harrison等<sup>[23]</sup>报道, Notch4在乳腺癌干细胞中的表达水平显著高于已分化的乳腺癌细胞。通过药物或基因敲除手段抑制Notch4信号通路可以完全抑制乳腺癌干细胞的致瘤能力。由于在调控乳腺癌干细胞中所起的重要作用, Notch通路也成为乳腺癌干细胞靶向治疗的作用靶点。Qiu等<sup>[24]</sup>报道, Notch1的单克隆抗体(mAb)可以增强三阴性乳腺癌细胞系Sum149和患者来源三阴性乳腺癌细胞在裸鼠移植瘤中对多西他赛的敏感性。同时, Notch1 mAb可以抑制乳腺微球的形成, 减少CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表型的细胞<sup>[24-25]</sup>, 说明Notch1 mAb可能成为靶向乳腺癌干细胞的治疗药物。

抑制转录因子Bmi-1和EZH2属于polycomb家族成员, 与组蛋白修饰有关, 可以调控干细胞的自我更新, 以及调控与细胞增殖、生长和分化相关基因的表达<sup>[26-28]</sup>。Pietersen等<sup>[29]</sup>报道, 敲除小鼠体内的Bmi-1可以降低乳腺干细胞的活性, 从而导致乳腺发育受损。Bmi-1在表型为CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>/Lin<sup>-</sup>的乳腺癌干细胞中也呈高表达, 可以与Hedgehog通路共同促进乳腺微球的形成和乳腺癌干细胞的自我更新<sup>[30]</sup>。EZH2在

分离得到的乳腺癌和胰腺癌干细胞中的表达水平显著高于已分化细胞,通过RNA干扰介导的EZH2敲除后,乳腺癌干细胞样活性丧失,维持干细胞样活性的相关基因表达下调<sup>[31]</sup>。该报道同时认为,EZH2可以作为报告基因用于快速筛选肿瘤干细胞<sup>[31]</sup>。

还有文献报道转录因子FOXC2在调控EMT和保持乳腺癌干细胞样活性中起到了重要作用<sup>[32]</sup>。shRNA介导的FOXC2基因敲除抑制了干细胞的间质表型、乳腺微球形成能力和致瘤能力,而在人乳腺上皮细胞中过表达FOXC2基因可以促进干细胞样活性,增强细胞转移能力。血小板源性生长因子 $\beta$  (PDGFR- $\beta$ )是受FOXC2调控的下游基因,PDGFR的抑制剂舒尼替尼(sunitinib)可以抑制FOXC2诱导的乳腺癌干细胞样活性和癌细胞的转移。

最近,Dong等<sup>[33]</sup>研究发现,肿瘤细胞的糖代谢与EMT以及乳腺癌干细胞也密切相关。基底样乳腺癌(basal-like breast cancer, BLBC)被认为是侵袭性强、易复发和远端转移、对化疗药物不敏感的一种乳腺癌。这种乳腺癌细胞高度表现出EMT特征,且拥有较强的乳腺癌干细胞样性质。研究发现,BLBC细胞中被认为与EMT相关的Snail蛋白与组蛋白甲基化转移酶G9A相互作用,招募了DNA甲基化转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)。这些蛋白组成Snail-G9A-DNMT1复合体作用于E-cadherin的启动子,沉默了E-cadherin的表达诱导了EMT。Snail-G9A-DNMT1同时还作用于果糖-1,6-二磷酸酶(fructose-1,6-biphosphatase, FBP1)的启动子,沉默了FBP1的表达。相比较而言,在Luminal型乳腺癌细胞中FBP1的表达量较高。FBP1的缺失增强了肿瘤细胞的糖酵解过程,增加了葡萄糖的摄取、生物大分子的合成以及四聚体丙酮酸激酶(PKM2)的产生,从而保持在缺氧环境下ATP的供给。FBP1的缺失还通过抑制线粒体复合物I (mitochondrial complex I)减少了氧气分子的摄取和活性氧的产生。这一系列代谢和供能的改变,增强了 $\beta$ -catenin与T细胞因子(T-cell factor)的相互作用,进一步促进了乳腺

癌干细胞样活性和致瘤能力。这些结果表明,FBP1的缺失与EMT、乳腺癌干细胞样活性以及从Luminal型乳腺癌向BLBC型转变具有密切的联系,也提示沉默E-cadherin和FBP1表达的Snail-G9A-DNMT1复合体可能成为治疗BLBC及靶向乳腺癌干细胞的作用靶点。

## 5 乳腺癌干细胞与小RNA(micro RNA, miRNA)

miRNA是一类内源性的具有调控能力的非编码RNA,可以根据“互补配对”原则识别、降解靶mRNA或者阻遏靶mRNA的翻译。越来越多的研究显示,miRNA参与了乳腺癌干细胞的调控。Shimono等<sup>[34]</sup>发现乳腺癌干细胞与分化的、无致瘤性的乳腺癌细胞之间有37簇miRNA表达差异有统计学意义。miR-200c-141、miR-200b-200a-429和miR-183-96-182在乳腺癌干细胞、人和鼠正常乳腺干/祖细胞以及胚胎癌细胞中低表达。其中miRNA-200c高度抑制了正常的乳腺干细胞的“干性”,促使其分化为乳腺导管,同时miRNA-200c也可以抑制乳腺癌干细胞在体内形成肿瘤。

Let-7是另一个抑制乳腺癌干细胞活性的miRNA,可以抑制乳腺癌干细胞的自我更新、对药物的抵抗和不对称细胞分裂<sup>[35]</sup>。

miR-7是最近发现的一个抑制乳腺癌干细胞的miRNA。在体外实验中,可以调控KLF4的表达,抑制乳腺癌干细胞的自我更新和侵袭能力。KLF-4是诱导干细胞多能性的关键基因。在鼠模型中,miR-7也可以通过调控KLF4的表达抑制乳腺癌干细胞向脑部转移<sup>[36]</sup>。此外,miR-7在乳腺癌细胞中的表达水平与波形蛋白呈负相关,与E-cadherin呈正相关,并被认为通过调控黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)抑制乳腺癌细胞的EMT过程和侵袭转移<sup>[37]</sup>。所以,miRNA-7可能通过靶向多个基因调控了乳腺癌干细胞。

此外,miR-21是一个促进干细胞活性的miRNA。研究发现,乳腺癌细胞系MCF-7经干细胞培养条件所形成的乳腺微球中,ALDH1<sup>+</sup>和CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>等干细胞表型的细胞显著增

加, 同时细胞表达N-cadherin、波形蛋白等间质细胞标志物。在这些细胞中, 缺氧诱导因子1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )和miR-21均表达上调, 而通过antagomir抑制miR-21可以逆转EMT过程, 下调HIF-1 $\alpha$ 表达, 抑制细胞的侵袭性和转移<sup>[38]</sup>。

## 6 乳腺癌干细胞和肿瘤微环境

大量研究表明, 炎症反应和肿瘤之间存在密切的联系。间质细胞、肿瘤相关成纤维细胞、上皮细胞、免疫细胞以及其分泌的促炎细胞因子、生长因子等细胞因子共同形成了肿瘤微环境, 为肿瘤的发生、发展提供了条件, 是肿瘤形成过程中必不可少的重要环节。在乳腺癌细胞中, 白介素6(interleukin-6, IL-6)结合至其受体与GP130组成的复合物上, 激活STAT3/NF- $\kappa$ B信号通路, 导致更多的IL-6转录和分泌, 从而形成了正反馈循环, 而IL-6、NF- $\kappa$ B的激活可以通过促进EMT和乳腺癌干细胞的自我更新, 促进肿瘤的生长和转移<sup>[39-41]</sup>。在shRNA介导Syndecan-1(CD138)敲除的乳腺癌中, IL-6及其受体IL-6R、细胞因子CCL-20均下调, IL-6/STAT3/NF- $\kappa$ B信号通路失活, 导致乳腺癌干细胞活性降低, 说明Syndecan-1通过IL-6/STAT3/NF- $\kappa$ B信号通路调控了乳腺癌干细胞<sup>[42]</sup>。基于在调控乳腺癌干细胞中的重要作用, IL-6/STAT3/NF- $\kappa$ B信号通路也成为开发靶向肿瘤干细胞治疗的作用靶点。Lin等<sup>[43]</sup>报道, 丹参酮II<sub>A</sub>(tanshinone II<sub>A</sub>)可以通过抑制这一信号通路, 减少IL-6、STAT3、磷酸化STAT3、NF- $\kappa$ B和cyclin D1的表达, 减少乳腺微球的形成, 抑制乳腺癌干细胞在体内的致瘤性和裸鼠移植瘤的生长。

另有研究表明, IL-8的受体CXCR1在乳腺癌干细胞中高表达, 而IL-8结合到CXCR1激活了下游的信号通路, 促进了乳腺癌干细胞的自我更新。在鼠移植瘤模型中, 用CXCR1的小分子拮抗剂repertaxin阻断这一信号通路, 可以显著减少乳腺癌干细胞的数量, 减少肿瘤的发生和转移<sup>[44]</sup>。Singh等<sup>[45]</sup>用直接来源于患者的乳腺癌细胞进行乳腺微球形成实验, 发现IL-8

的表达水平与乳腺微球的大小和形成率呈正相关, 重组的IL-8可以增加乳腺微球的形成; EGFR拮抗剂拉帕替尼(lapatinib)和CXCR1/2的小分子拮抗剂可以抑制IL-8刺激乳腺微球形成的作用, 特别是在HER-2阳性的乳腺癌细胞中, CXCR1/2的小分子拮抗剂与拉帕替尼产生协同作用。

此外, Sigurdsson等<sup>[46]</sup>报道, 基质中成肌纤维细胞分泌的肝细胞生长因子(hepatocyte growth factors, HGF)通过激活Wnt信号通路, 诱导了乳腺癌细胞中EMT表型。TGF- $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 也可以通过促进EMT诱导乳腺癌干细胞的产生, 以及保持干细胞样活性<sup>[47-48]</sup>。

## 7 乳腺癌干细胞与肿瘤治疗抵抗

肿瘤干细胞对传统化疗药物的抵抗被认为是癌症复发的根源<sup>[49]</sup>。新辅助化疗后的原发性乳腺癌患者经活检取出的肿瘤细胞, 用流式细胞仪检测发现其中CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>的乳腺癌干细胞与化疗前相比比例增加, 乳腺微球形成能力也相应提高。相比较而言, 拉帕替尼治疗的HER-2阳性乳腺癌患者经活检取出的肿瘤细胞, CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表型的细胞并没有明显增加<sup>[50]</sup>。提示传统化疗的同时, 可以联合使用靶向肿瘤干细胞的药物以减少日后复发的可能, 延长患者的生存期<sup>[50]</sup>。

一项临床研究表明, 经多西他赛联合表柔比星的新辅助化疗后, ALDH阳性肿瘤的比例显著增加, ALDH阳性肿瘤获得的完全病理缓解(pCR)率显著低于ALDH阴性的肿瘤。但CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表型之间差异无统计学意义<sup>[51]</sup>。

Mao等<sup>[52]</sup>报道, 在体外用紫杉醇处理乳腺癌细胞系MCF-7可以使得表型为CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>的乳腺癌干细胞比例增加, 说明肿瘤干细胞对传统化疗药物紫杉醇抵抗。在这些由紫杉醇处理而富集到的乳腺癌干细胞中, Notch1呈高表达。shRNA介导Notch1基因敲除后, 这些乳腺癌干细胞对紫杉醇的敏感度增高, 形成乳腺微球的能力也显著降低。裸鼠体内实验也表明, 敲除Notch1基因后的肿瘤细胞对紫杉醇治疗更加敏感。机制研究显示, Notch1基因敲除

后, ALDH1、NICD、Hes-1以及药物转运蛋白 ABCG2表达下调。

抗血管生成治疗被认为是肿瘤治疗的重要组成部分, 但治疗乳腺癌的效果却不能令人满意。最近的一项研究表明, 抗血管生成药物舒尼替尼和贝伐单抗(bevacizumab)能增强乳腺癌细胞的侵袭和转移<sup>[53]</sup>。在人乳腺癌细胞的裸鼠移植瘤中, 因抗血管生成药物能加剧肿瘤内部的缺氧环境, 增加了乳腺癌干细胞的比例。HIF-1 $\alpha$ 在体外实验中介导了缺氧条件诱导乳腺癌干细胞的过程。同时, 在体外实验和经舒尼替尼治疗的人乳腺癌裸鼠移植瘤模型中显示, Akt和 $\beta$ -catenin等干细胞调控信号通路在缺氧条件下被激活, 导致了乳腺癌干细胞比例的增加。这些研究表明, 正是由于缺氧环境诱导乳腺癌干细胞限制了抗血管生成药物的治疗效果, 也说明这些抗血管生成药物应当与靶向干细胞的治疗药物联合使用。

## 8 结 语

乳腺癌干细胞的发现为研究乳腺癌的发病机制提供了新的方向, 随着乳腺癌干细胞致病机制、生物学特性和基因调控机制研究的不断深入, 对乳腺癌发生、发展以及关键调控点不断阐明, 靶向乳腺癌干细胞的治疗方法也将进一步发展, 期望能真正解决乳腺癌的转移复发问题。

### [参 考 文 献]

- [ 1 ] GONZALEZ-ANGULO A M, MORALES-VASQUEZ F, HORTOBAGYI G N. Overview of resistance to systemic therapy in patients with breast cancer [ J ] . *Adv Exp Med Biol*, 2007, 608: 1-22.
- [ 2 ] AL-HAJJ M, WICHA M S, BENITO-HERNANDEZ A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [ J ] . *Proceedings Natl Acad Sci*, 2003, 100(7): 3983-3988.
- [ 3 ] GINESTIER C, HUR M H, 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.
- [ 4 ] ALISON M R, GUPPY N J, LIM S M, et al. Finding cancer stem cells: are aldehyde dehydrogenases fit for purpose? [ J ] . *J Pathol*, 2010, 222(4): 335-344.
- [ 5 ] MORIMOTO K, KIM S J, TANEI T, et al. Stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1-positive breast cancers are characterized by negative estrogen receptor, positive human epidermal growth factor receptor type 2, and high Ki67 expression [ J ] . *Cancer Sci*, 2009, 100(6): 1062-1068.
- [ 6 ] CHARAFE-JAUFFRET E, GINESTIER C, IOVINO F, et al. Aldehyde dehydrogenase 1-Positive cancer stem cells mediate metastasis and poor clinical outcome in inflammatory breast cancer [ J ] . *Clin Cancer Res*, 2010, 16(1): 45-55.
- [ 7 ] PECE S, TOSONI D, CONFALONIERI S, et al. Biological and molecular heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content [ J ] . *Cell*, 2010, 140(1): 62-73.
- [ 8 ] PONTI D, COSTA A, ZAFFARONI N, et al. Isolation and in vitro propagation of tumorigenic breast cancer cells with stem/progenitor cell properties [ J ] . *Cancer Res*, 2005, 65(13): 5506-5511.
- [ 9 ] PATRAWALA L, CALHOUN T, SCHNEIDER-BROUSSARD R, et al. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas ABCG2+ and ABCG2 cancer cells are similarly tumorigenic [ J ] . *Cancer Res*, 2005, 65(14): 6207-6219.
- [ 10 ] VASSILOPOULOS A, WANG R H, PETROVAS C, et al. Identification and characterization of cancer initiating cells from BRCA1 related mammary tumors using markers for normal mammary stem cells [ J ] . *Intl J Biol Sci*, 2008, 4(3): 133.
- [ 11 ] ZHANG M, BEHBOD F, ATKINSON R L, et al. Identification of tumor-initiating cells in a p53-null mouse model of breast cancer [ J ] . *Cancer Res*, 2008, 68(12): 4674-4682.
- [ 12 ] ALLAN A L, VANTYGHEN S A, TUCK A B, et al. Tumor dormancy and cancer stem cells: implications for the biology and treatment of breast cancer metastasis [ J ] . *Breast Dis*, 2007, 26(1): 87-98.
- [ 13 ] SHOOK D, KELLER R. Mechanisms, mechanics and function of epithelial-mesenchymal transitions in early development [ J ] . *Mech Develop*, 2003, 120(11): 1351-1383.
- [ 14 ] STINGL J, EIREW P, RICKETSON I, et al. Purification and unique properties of mammary epithelial stem cells [ J ] . *Nature*, 2006, 439(7079): 993-997.
- [ 15 ] ZAVADIL J, BÖTTINGER E P. TGF- $\beta$  and epithelial-to-mesenchymal transitions [ J ] . *Oncogene*, 2005, 24(37): 5764-5774.
- [ 16 ] MANI S A, GUO W, LIAO M J, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells [ J ] . *Cell*, 2008, 133(4): 704-715.
- [ 17 ] MOREL A P, LIÈVRE M, THOMAS C, et al. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition [ J ] . *PLoS one*, 2008, 3(8): e2888.
- [ 18 ] REYA T, MORRISON S J, CLARKE M F, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells [ J ] . *Nature*, 2001, 414(6859): 105-111.
- [ 19 ] TAKEBE N, HARRIS P J, WARREN R Q, et al. Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways [ J ] . *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 8(2): 97-106.
- [ 20 ] KALLURI R, WEINBERG R A. The basics of epithelial-

- mesenchymal transition [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6): 1420.
- [ 21 ] LEE J Y, JANG K S, SHIN D H, et al. Mel-18 negatively regulates INK4a/ARF-independent cell cycle progression via Akt inactivation in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(11): 4201-4209.
- [ 22 ] WON H Y, LEE J Y, SHIN D H, et al. Loss of Mel-18 enhances breast cancer stem cell activity and tumorigenicity through activating Notch signaling mediated by the Wnt/TCF pathway [J]. *FASEB*, 2012, 26(12): 5002-5013.
- [ 23 ] HARRISON H, FARNIE G, HOWELL S J, et al. Regulation of breast cancer stem cell activity by signaling through the Notch4 receptor [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(2): 709-718.
- [ 24 ] QIU M, PENG Q, JIANG I, et al. Specific inhibition of Notch1 signaling enhances the antitumor efficacy of chemotherapy in triple negative breast cancer through reduction of cancer stem cells [J]. *Cancer Lett*, 2012, 328(2): 261-270.
- [ 25 ] SHARMA A, PARANJAPE A N, RANGARAJAN A, et al. A monoclonal antibody against human Notch1 ligand-binding domain depletes subpopulation of putative breast cancer stem-like cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(1): 77-86.
- [ 26 ] PARK I K, QIAN D, KIEL M, et al. Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing haematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2003, 423(6937): 302-305.
- [ 27 ] MOLOFSKY A V, PARDAL R, IWASHITA T, et al. Bmi-1 dependence distinguishes neural stem cell self-renewal from progenitor proliferation [J]. *Nature*, 2003, 425(6961): 962-967.
- [ 28 ] VAN VLERKEN L E, HURT E M, HOLLINGSWORTH R E. The role of epigenetic regulation in stem cell and cancer biology [J]. *J Mol Med*, 2012, 90(7): 791-801.
- [ 29 ] PIETERSEN A M, EVERS B, PRASAD A A, et al. Bmi1 regulates stem cells and proliferation and differentiation of committed cells in mammary epithelium [J]. *Curr Biol*, 2008, 18(14): 1094-1099.
- [ 30 ] LIU S, DONTU G, MANTLE I D, et al. Hedgehog signaling and Bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(12): 6063-6071.
- [ 31 ] VAN VLERKEN L E, KIEFER C M, MOREHOUSE C, et al. EZH2 is required for breast and pancreatic cancer stem cell maintenance and can be used as a functional cancer stem cell reporter [J]. *Stem Cells Trans Med*, 2013, 2(1): 43-52.
- [ 32 ] HOLLIER B G, TINNIRELLO A A, WERDEN S J, et al. FOXC2 expression links epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(6): 1981-1992.
- [ 33 ] DONG C, YUAN T, WU Y, et al. Loss of FBP1 by Snail-mediated repression provides metabolic advantages in basal-like breast cancer [J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(3): 316-331.
- [ 34 ] SHIMONO Y, ZABALA M, CHO R W, et al. Downregulation of miRNA-200c links breast cancer stem cells with normal stem cells [J]. *Cell*, 2009, 138(3): 592-603.
- [ 35 ] YU F, YAO H, ZHU P, et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells [J]. *Cell*, 2007, 131(6): 1109-1123.
- [ 36 ] OKUDA H, XING F, PANDEY P R, et al. miR-7 suppresses brain metastasis of breast cancer stem-like cells by modulating KLF4 [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(4): 1434-1444.
- [ 37 ] KONG X, LI G, YUAN Y, et al. MicroRNA-7 inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis of breast cancer cells via targeting FAK expression [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e41523.
- [ 38 ] HAN M, WANG Y, LIU M, et al. MiR-21 regulates epithelial-mesenchymal transition phenotype and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression in third-sphere forming breast cancer stem cell-like cells [J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(6): 1058-1064.
- [ 39 ] SULLIVAN N, SASSER A, AXEL A, et al. Interleukin-6 induces an epithelial-mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 2009, 28(33): 2940-2947.
- [ 40 ] ILIOPOULOS D, HIRSCH H A, WANG G, et al. Inducible formation of breast cancer stem cells and their dynamic equilibrium with non-stem cancer cells via IL6 secretion [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2011, 108(4): 1397-1402.
- [ 41 ] KORKAYA H, KIM G I, DAVIS A, et al. Activation of an IL6 inflammatory loop mediates trastuzumab resistance in HER-2+ breast cancer by expanding the cancer stem cell population [J]. *Mol Cell*, 2012, 47(4): 570-584.
- [ 42 ] IBRAHIM S A, HASSAN H, GREVE B, et al. Syndecan-1(CD138) modulates breast cancer stem cell properties via regulation of IL-6-mediated STAT3 signaling [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2013, 121(03): OP3\_20.
- [ 43 ] LIN C, WANG L, WANG H, et al. Tanshinone II A inhibits breast cancer stem cells growth in vitro and in vivo through attenuation of IL-6/STAT3/NF-kB signaling pathways [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(9): 2061-2070.
- [ 44 ] GINESTIER C, LIU S, DIEBEL M E, et al. CXCR1 blockade selectively targets human breast cancer stem cells in vitro and in xenografts [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(2): 485.
- [ 45 ] SINGH J K, FARNIE G, BUNDRED N J, et al. Targeting CXCR1/2 significantly reduces breast cancer stem cell activity and increases the efficacy of inhibiting HER-2 via HER-2-dependent and-independent mechanisms [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(3): 643-656.
- [ 46 ] SIGURDSSON V, HILMARSDOTTIR B, SIGMUNDSDOTTIR H, et al. Endothelial induced EMT in breast epithelial cells with stem cell properties [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e23833.
- [ 47 ] LI C W, XIA W, HUO L, et al. Epithelial-Mesenchymal Transition Induced by TNF- $\alpha$  Requires NF- $\kappa$ B-Mediated Transcriptional Upregulation of Twist1 [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(5): 1290-1300.

- carcinoma in situ: kinetic and morphologic MR characteristics compared with mammographic appearance and nuclear grade [J]. *Radiology*, 2007, 245(3): 684-691.
- [12] KELLER A. Noninvasive tissue oximetry [J]. *Clin Plast Surg*, 2011, 38(2): 313-324.
- [13] FURMAN-HARAN E, SCHECHTMAN E, KELCZ F, et al. Magnetic resonance imaging reveals functional diversity of the vasculature in benign and malignant breast lesions [J]. *Cancer*, 2005, 104(4): 708-718.
- [14] 刘春玲, 何晖, 张金娥, 等. 乳腺导管原位癌的MRI表现及其与组织学核级别的相关性分析 [J]. *临床放射学杂志*, 2012, 31(1): 29-33.
- [15] MAHONEY M C, GATSONIS C, HANNA L, et al. Positive predictive value of BI-RADS MR imaging [J]. *Radiology*, 2012, 264(1): 51-58.

(收稿日期: 2013-06-25)

(上接第623页)

- [40] GRAHAM G J, LOCATI M. Regulation of the immune and inflammatory responses by the 'atypical' chemokine receptor D6 [J]. *J Pathol*, 2013, 229(2): 168-175.
- [41] LEE K M, NIBBS R J, GRAHAM G J. D6: the 'crowd controller' at the immune gateway [J]. *Trends Immunol*, 2013, 34(1): 7-12.
- [42] WU F Y, OU Z L, FENG L Y, et al. Chemokine decoy receptor d6 plays a negative role in human breast cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(8): 1276-1288.
- [43] CHENG X, HUNG M C. Regulation of breast cancer metastasis by atypical chemokine receptors [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(9): 2951-2953.
- [44] FENG L Y, OU Z L, WU F Y, et al. Involvement of a novel chemokine decoy receptor CCX-CKR in breast cancer growth, metastasis and patient survival [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(9): 2962-2970.
- [45] ZENG X H, OU Z L, YU K D, et al. Coexpression of atypical chemokine binders (ACBs) in breast cancer predicts better outcomes [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 125(3): 715-727.
- [46] DERUAZ M, FRAUENSCHUH A, ALESSANDRI A L, et al. Ticks produce highly selective chemokine binding proteins with antiinflammatory activity [J]. *J Exp Med*, 2008, 205(9): 2019-2031.
- [47] ALLEGRETTI M, CESTA M C, GARIN A, et al. Current status of chemokine receptor inhibitors in development [J]. *Immunol Lett*, 2012, 145(1-2): 68-78.
- [48] HORUK R. Chemokine receptor antagonists: overcoming developmental hurdles [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(1): 23-33.

(收稿日期: 2013-06-12)

(上接第630页)

- [48] HORUK R. Chemokine receptor antagonists: overcoming developmental hurdles [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(1): 23-33.
- [48] PATEL S A, MEYER J R, GRECO S J, et al. Mesenchymal stem cells protect breast cancer cells through regulatory T cells: role of mesenchymal stem cell-derived TGF- $\beta$  [J]. *J Immunol*, 2010, 184(10): 5885-5894.
- [49] DEAN M, FOJO T, BATES S. Tumour stem cells and drug resistance [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(4): 275-284.
- [50] LI X, LEWIS M T, HUANG J, et al. Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100(9): 672-679.
- [51] 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.
- [52] MAO J, SONG B, SHI Y, et al. ShRNA targeting Notch1 sensitizes breast cancer stem cell to paclitaxel [J]. *Intl J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(6): 1064-1073.
- [53] CONLEY S J, GHEORDUNESCU E, KAKARALA P. Antiangiogenic agents increase breast cancer stem cells via the generation of tumor hypoxia [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2012, 109(8): 2784-2789.

(收稿日期: 2013-07-15)