

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.05.007

· 基础研究 ·

干细胞标志物在卵巢癌 SKOV3 细胞侧群细胞中的表达

钟艳平¹, 孟泳圳², 苏节¹, 李力^{1,2}, 黎丹戎¹, 张玮²(1. 广西医科大学 医学科学实验中心, 广西南宁 530021; 2. 广西医科大学附属肿瘤医院 妇瘤科, 广西南宁 530021)

[摘要] **目的:**检测干细胞相关标志物在卵巢癌 SKOV3 细胞系侧群(side population, SP)细胞和非侧群(Non-SP)细胞中的表达差异,确定卵巢癌干细胞特异性标志物。**方法:**Hoechst 33342 染色检测 SKOV3 细胞中 SP 细胞的比例,流式细胞术检测 SKOV3 细胞的 SP 和 Non-SP 细胞中干细胞标志物 CD133、CD117、CD44、ABCG2、ALDH1 的表达情况,荧光定量 PCR 检测 SP 和 Non-SP 细胞中 *ABCG2*、*ALDH2*、*NANOG*、*OCT4*、*SOX2*、*CD133*、*CD117* mRNA 的表达水平。**结果:**SKOV3 细胞中 SP 细胞比例为 $(1.56 \pm 0.35)\%$ 。ALDH1、ABCG2 在 SP 细胞中表达率分别为 $(87.3 \pm 5.76)\%$ 、 $(29.48 \pm 4.43)\%$,在 Non-SP 的表达率分别为 $(5.32 \pm 0.47)\%$ 、 $(3.01 \pm 1.69)\%$,差异有统计学意义($P < 0.01$);CD44 在这两种细胞亚群中的表达率均高于 99% ($P > 0.05$);CD133、CD117 在这两种细胞亚群中均不表达。*ALDH1*、*ABCG2*、*NANOG*、*OCT4* 和 *SOX2* mRNA 在 SP 细胞中的表达分别是 Non-SP 细胞的 21.03 倍($P = 0.001$)、3.14 倍($P = 0.001$)、23.94 倍($P = 0.001$)、10.73 倍($P = 0.009$)和 21.46 倍($P = 0.001$),*CD133*、*CD117* mRNA 在两种细胞亚群中均不表达。**结论:**人卵巢癌细胞株 SKOV3 中存在 SP 细胞亚群,*ALDH1*、*ABCG2*和 *NANOG*、*OCT4*、*SOX2* mRNA 可能是卵巢癌干细胞标志物,为诊断及治疗卵巢癌提供了潜在的靶点。

[关键词] 卵巢癌;SP 细胞;肿瘤干细胞;标志物

[中图分类号] R737.31; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)05-0521-05

Expression of stem cell markers in the side population of ovarian cancer SKOV3 cells

Zhong Yanping¹, Meng Yongzhen², Su Jie¹, Li Li^{1,2}, Li Danrong¹, Zhang Wei²(1. Medical Science Experimental Center, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China; 2. Department of Gynecological Oncology, Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

[Abstract] **Objective:** To study the differential expression of ovarian cancer stem cell specific markers in the side population (SP) and non-SP of human epithelial ovarian cancer SKOV3 cells. **Methods:** The SP of SKOV3 cells was identified and sorted by flow cytometry using the blue fluorescent dye Hoechst 33342. The expression of CD133, CD117, CD44, ABCG2 and ALDH2 at the protein level in SP and non-SP cells was assessed by flow cytometry. The expression of *ALDH1*, *ABCG2*, *NANOG*, *OCT4*, *SOX2*, *CD133* and *CD117* at the mRNA level in SP and non-SP cells was assessed by RT-PCR. **Results:** In SKOV3 cells, SP accounted for $(1.56 \pm 0.35)\%$. ALDH1 and ABCG2 proteins were detected in $(87.3 \pm 5.76)\%$ and $(29.48 \pm 4.43)\%$ of SP cells respectively, both significantly higher than those in non-SP cells ($P < 0.05$). CD44 protein was detected in greater than 99% of cells in both subpopulations ($P > 0.05$). Neither CD133 nor CD117 protein was detected in both subpopulations. The mRNA levels of *ALDH1*, *ABCG2*, *NANOG*, *OCT4* and *SOX2* in SP cells were increased by 21.03 ($P = 0.001$), 3.14 ($P = 0.001$), 23.94 ($P = 0.001$), 10.73 ($P = 0.009$), 21.46 ($P = 0.001$) folds, respectively, as compared with the levels in Non-SP cells. *CD133* and *CD117* transcripts were detected in neither sub-population of SKOV3 cells. **Conclusion:** There is a SP in human ovarian cancer SKOV3 cells expressing stem cell markers *ALDH1* and *ABCG2* at the protein level and *NANOG*, *OCT4*, and *SOX2* at the mRNA level like ovar-

[基金项目] 广西卫生计生厅重点项目(No. 2010074);广西自然科学基金资助项目(No. 2012GXNSFAA053134);广西研究生教育创新计划项目资助(No. YCSZ2012045)。Project supported by Key Projects of Guangxi Health Bureau(No. 2010074), the Natural Science Foundation of Guangxi Province(No. 2012GXNSFAA053134), and the Innovation Project of Guangxi Postgraduate Education Fund(No. YCSZ2012045)

[作者简介] 钟艳平(1971-),女,广西南宁人,硕士,助理研究员,主要从事肿瘤分子标志物的研究, E-mail: 943174896@qq.com

[通信作者] 张玮(Zhang Wei, corresponding author), E-mail: zw1125@126.com

ian cancer stem cells. This SP of SKOV3 cells may offer a very useful tool for ovarian cancer stem cell research.

[**Key words**] ovarian cancer; side population (SP) cell; cancer stem cell (CSC); marker

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(5): 521-525]

肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)理论认为,肿瘤是由异质性的细胞群体组成, CSC 是肿瘤中具有无限增殖潜能的驱动肿瘤形成、生长和转移的细胞^[1]。CSC 概念的提出是人类认识肿瘤发病机制的一大进步,为肿瘤的治疗提供了新的靶标。如能鉴定出 CSC 特异性标志物或异常表达的标志物,将有助于从根本上阐明肿瘤的发生机制。近年来,人们针对卵巢癌干细胞的分离与鉴定开展了大量的研究,分析了该类细胞特征性的标志物,但迄今为止仍无确切的证据表明卵巢癌干细胞的特异性标志物是哪一种或哪几种。侧群(side population, SP)细胞是一种特殊类型的干细胞,能够将荧光染料 Hoechst 33342 泵出细胞外而使细胞呈弱荧光信号。肿瘤细胞株中的 SP 细胞,具有很强的耐药性及致瘤能力,可能是癌干细胞^[2-3]。本研究通过流式分选技术富集该细胞亚群后,检测该亚群中干细胞相关标志物 CD44、CD117、CD133、ABCG2、ALDH2 和 *NANOG*、*OCT4*、*SOX2* mRNA 的表达,以期更深入地了解卵巢癌的发病机制,为卵巢癌的诊断及治疗提供潜在的靶标。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人卵巢癌细胞株 SKOV3 为广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部保存。胎牛血清、RM1640 培养基购自美国 Hyclone 公司, Hoechst 33342、7-AAD 购自美国 Sigma 公司, 盐酸维拉帕米购自阿拉丁公司, TRIzol 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司, 逆转录试剂盒购自美国 Roche 公司。SYBR[®] Premix Ex Taq II 荧光染料试剂盒购自 TaKaRa 公司。ABCG2、CD133、CD117、CD44、ALDH2 的免疫荧光抗体及同型对照均购自美国 BD 公司。BD Influx[™] 流式细胞仪购自美国 BD 公司, Real-time PCR 仪及梯度 PCR 仪均购自美国 ABI 公司。Real-time PCR 引物由广东英骏生物技术有限责任公司合成。

1.2 Hoechst 33342 染色检测 SKOV3 细胞中 SP 细胞的存在

用含 10% 胎牛血清、100 U/ml 的青霉素和 100 μg/ml 链霉素的 RPMI-1640 培养液在 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 恒温培养箱内培养 SKOV3 细胞, 每 3 ~ 4 d 传代一次。(1)Hoechst 33342 浓度梯度: 将处于对数生长期的 SKOV3 细胞制备成单细胞悬液, 调整

细胞密度为 1×10^6 个/ml。实验组及对照组(维拉帕米阻滞组)均加入 1 ml 单细胞悬液, 阻滞组加入终质量浓度为 100 μmol/ml 的维拉帕米, 两组置 37 °C 水浴 15 min, 两组分别加入 2.5、3、4、5、6 μg/ml Hoechst 33342, 37 °C 水浴孵育 90 min, 期间每隔 10 min 混匀细胞 1 次。孵育结束后, 将细胞置于冰上 5 min 以终止染色, 每管加入 4 °C 预冷的 PBS, 4 °C、800 × g 离心 5 min, 弃上清, 用 4 °C 预冷的含 5% FBS 的培养液重悬细胞, 加入 2 μg/ml 7-AAD。300 目筛网过滤细胞至 12 × 75 mm Falcon 上样管中, 流式细胞仪检测前置于冰上。(2)细胞密度梯度: 细胞密度分别调整至 6×10^5 、 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 个/ml, 每个密度均设实验组及对照组, Hoechst 33342 终质量浓度均为 3 μg/ml, 余染色步骤同上。每一条件重复三次实验。(3)流式检测: Hoechst 33342 与双链 DNA 结合后, 被 355 nm 紫外光源激发后可发射出红色和蓝色两种光, 460 nm 带通(460/50 nm BP)收集蓝光, 670 nm 长通(670/30 nm LP)收集红光。以 670/30 nm LP 为 X 轴, 460/50 nm BP 为 Y 轴作二维散点图, 可以看到在二维散点图中左侧有一群呈现较弱红光及较弱蓝光甚至荧光染色阴性的细胞, 加入维拉帕米后几乎完全被抑制掉, 在相同位置消失的这群细胞即为“SP”细胞。

1.3 流式细胞术检测 SKOV3 细胞表面 CD133、CD117、CD44、ABCG2、ALDH1 的表达

将处于对数生长期的 SKOV3 细胞制备成密度为 8×10^5 /ml 细胞悬液, 按上述步骤完成 Hoechst 33342(终质量浓度 3 μg/ml)染色后, 分别加入荧光标记的抗体或相应的同型对照抗体, 混匀后室温避光孵育 30 min。加入 PBS 缓冲液, 离心洗涤后, 流式细胞术检测各荧光标记抗体的表达。

1.4 Real-time PCR 检测 SKOV3 细胞内 *ABCG2*、*ALDH2*、*NANOG*、*OCT4*、*SOX2*、*CD133*、*CD117* mRNA 的表达

收集流式分选的 SP 及 Non-SP 细胞 4×10^5 个, 分别用 TRIzol 提取细胞总 RNA, 20 μl 无 RNase 水溶解后检测 RNA 的纯度与浓度。取 2 μg 总 RNA, 按逆转录试剂盒说明书将总 RNA 反转录成 cDNA, 再以为模板进行 Real-time PCR 扩增目的基因。引物采用 Premier 5.0 软件设计, NCBI Blast 比对引物特异性,

引物序列见表 1。荧光定量 PCR 反应体系为 20 μl , 含 SYBR 预混试剂 10 μl 、ROX 参考染料 0.4 μl 、上下游引物 (0.4 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.8 μl , cDNA 1.0 μl (0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) 和去 RNA 酶水 7 μl 。反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 40 个循环, 收集荧

光; 60 $^{\circ}\text{C}$ 绘制溶解曲线。应用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法分析 SP 与 Non-SP 细胞目的基因和内参基因 (GAPDH) 的 Ct 值, $\Delta\Delta\text{CT} = \{ (\text{CT}_{\text{目的}} - \text{CT}_{\text{内参}})_{\text{SP}} - (\text{CT}_{\text{目的}} - \text{CT}_{\text{内参}})_{\text{NSP}} \}$, Non-SP 细胞组数据标准化为 1, 计算 SP 细胞与 Non-SP 细胞各基因的相对表达差异。

表 1 荧光定量 PCR 检测各基因的引物序列
Tab. 1 Primer sequence of each gene for real-time PCR

Gene	Sense	Antisense
<i>ADHL1</i>	5'-GAGTGGGAAGAAAGAAGGG-3'	5'-CTGTGGCTGGACAAAGT-3'
<i>ABCG2</i>	5'-AGGTCTGGATAAAGTGGCA-3'	5'-GAGGCTGATGAATGGAGAA-3'
<i>OCT4</i>	5'-GTGTTTCAGCCAAAAGACCATCT-3'	5'-GGCCTGCATGAGGGTTTCT-3'
<i>NANOG</i>	5'-TTTGTGGGCCTGAAGAAAAC-3'	5'-AGGGCTGCTCTGAATAAGCAG-3'
<i>SOX2</i>	5'-GCCGAGTGGAACTTTTGTCC-3'	5'-GGCAGCGTGTACTTATCCTTCT-3'
<i>CD133</i>	5'-GTCTGACCAGCGTGAAAAC-3'	5'-GCCATCCAAATCTGTCTCTA-3'
<i>CD117</i>	5'-ATGGGAAAGAAGACAACGA-3'	5'-CTTGGGGTCAGGAATAAAC-3'
<i>GAPDH</i>	5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'	5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'

1.5 统计学处理

所有实验均重复 3 次以上, 计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS17.0 统计软件, 组间比较采用方差分析和 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SKOV3 细胞中含有 SP 细胞

在细胞密度为 8×10^5 个/ml、Hoechst 33342 终质量浓度为 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, SKOV3 SP 细胞的比例最为稳定, 且细胞保持良好的活性 (活细胞比例 $> 90\%$)。流式细胞仪检测结果 (图 1) 显示, SKOV3 细胞中 SP 细胞的比例为 $(1.56 \pm 0.35)\%$, 加入维拉帕米的对照组 SP 细胞比例为 0% 或接近 0% 的水平。

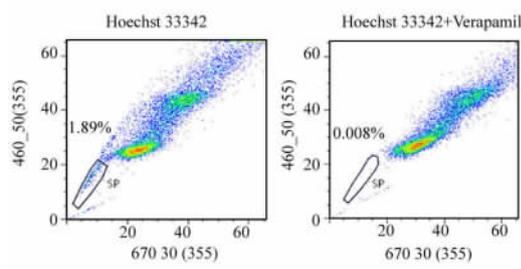


图 1 卵巢癌细胞株 SKOV3 中 SP 细胞比例
Fig. 1 Proportion of SP cells in SKOV3 cells

2.2 SKOV3 中 SP 与 Non-SP 细胞表面 CD133、CD117、CD44、ABCG2、ALDH1 的表达

流式细胞检测结果 (图 2) 显示, ALDH1 [$(87.3 \pm 5.76)\%$ vs $(5.32 \pm 0.47)\%$, $P < 0.01$], ABCG2 [$(29.48 \pm 4.43)\%$ vs $(3.01 \pm 1.69)\%$, $P < 0.01$] 在 SKOV3 SP 细胞中表达率显著高于在 Non-SP 细胞中的表达率; CD44 在这两种细胞亚群中均高表达且表达率无显著差异 [$(98.6 \pm 0.8)\%$ vs $(98.4 \pm 1.25)\%$, $P > 0.01$]; CD133、CD117 在这两种细胞亚群中均不表达或表达极微弱。

2.3 SKOV3 中 SP 细胞和 Non-SP 细胞中干细胞相关标志物 mRNA 的表达

Real-time PCR 检测结果 (表 2) 显示, 在 SKOV3 SP 细胞中, *ALDH1*、*ABCG2*、*NANOG*、*OCT4*、*SOX2* mRNA 的相对表达分别是 Non-SP 细胞的 21.03 ($P = 0.001$)、3.14 ($P = 0.001$)、23.94 ($P = 0.001$)、10.73 ($P = 0.009$)、21.46 ($P = 0.001$) 倍。CD133 及 CD117 mRNA 在两个细胞亚群中均未检测到有表达。

3 讨论

目前分离肿瘤干细胞最权威的方法是利用肿瘤干细胞表达的特异性标志物。但由于卵巢癌异质性强, 来源及发病机制尚未明确, 且针对正常卵巢组织干细胞的研究少, 因此寻找卵巢癌干细胞的表面标志物尤为困难。SP 细胞富含多种膜转运蛋白, 具有

将 Hoechst 33342 等荧光染料泵出细胞的特性,使细胞浅着色或不着色,为研究卵巢癌干细胞提供了

一种实用而简便的手段。

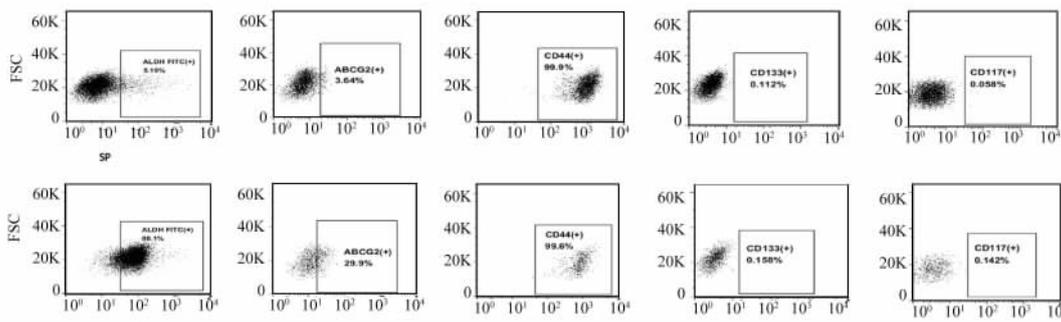


图 2 流式细胞术检测 SP 细胞与 Non-SP 细胞 ALDH1、ABCG2、CD44、CD133、CD117 的表达

Fig. 2 Expression of ALDH1, ABCG2, CD44, CD133 and CD117 in SP cells and Non-SP cells detected by flow cytometry

表 2 Real-time PCR 检测 SP 与 Non-SP 细胞中 ALDH1、ABCG2、NANOG、OCT4、SOX2、CD133 及 CD117 mRNA 水平

Tab.2 Expression of mRNA of ALDH1, ABCG2, NANOG, OCT4, SOX2, CD133 and CD117 mRNA in SP cells and Non-SP cells measured by real-time PCR

Gene	SP			Non-SP		
	CT Mean	Δ Δ CT	RQ	CT Mean	Δ Δ CT	RQ
ADHL1	11.29 ± 0.05	-4.39 ± 0.07	21.03*	15.68 ± 0.77	0 ± 0.79	1
ABCG2	5.16 ± 0.01	-1.65 ± 0.09	3.14*	6.81 ± 0.22	0 ± 0.23	1
OCT4	9.37 ± 0.28	-4.58 ± 0.36	23.94*	13.53 ± 0.13	0 ± 0.20	1
NANOG	10.10 ± 0.35	-3.42 ± 0.48	10.73*	13.53 ± 0.27	0 ± 0.3	1
SOX2	11.49 ± 0.144	-4.42 ± 0.22	21.46*	15.91 ± 0.82	0 ± 0.82	1
CD133	-	-	-	-	-	-
CD117	-	-	-	-	-	-

* P < 0.05 vs Non-SP cells

本研究利用流式分选技术富集具有癌干细胞特性的 SP 细胞后,进一步探讨其可能的特异性标志物。选取目前研究较多的干细胞标志物 CD117、CD133、CD44、ABCG2、ALDH2、NANOG、OCT4 和 SOX2,采用流式及 Real-time PCR 技术,检测它们在卵巢癌 SKOV3 SP 细胞和 Non-SP 细胞上的表达差异。结果发现,在蛋白和核酸水平均未检测到 CD117 和 CD133 的表达,而 CD44 则在两种细胞亚群中均有接近 100% 的阳性表达率。这与以往的研究结果^[4-6]存在较大的分歧。CD133 是 Prominin 家族成员,相对分子质量为 120 000,是含 5 次穿膜结构的糖蛋白,最初因被证实为造血干细胞的标志物而被广泛关注^[7]。CD133 是目前研究最多也是最被广泛认可的卵巢癌干细胞标志物^[8]。Baba 等^[9]研究了卵巢癌细胞系、卵巢癌组织及卵巢癌患

者腹水细胞中的 CD133 表达情况,发现 CD133⁺ 细胞具有更强的致瘤性,对化疗药物耐药,可不对称分裂产生 CD133⁻ 子代细胞。CD117 又称 c-kit,编码受体酪氨酸家族蛋白,是干细胞因子受体^[10]。CD117 同样被证实为多种实体肿瘤干细胞标志物^[11-12]。He 等^[13]分析人卵巢癌干细胞标志物时,发现 CD117 高表达。CD44 是一种细胞表面穿膜糖蛋白,在肿瘤细胞的黏附、转移及迁移中起重要作用。Zhang 等^[14]对卵巢癌患者腹水细胞进行悬浮培养后,发现 CD44⁺ CD117⁺ 细胞对顺铂和紫杉醇具有耐药性,接种于免疫缺陷的小鼠体内,可使其产生与来源肿瘤病理类型相似的移植瘤。本研究发现,卵巢癌 SKOV3 SP 和 Non-SP 细胞中 CD117、CD133 不表达,CD44 表达无差异,说明即使对同一种肿瘤,由于不同的实验材料及实验体系,也可能得

到截然相反的结论。因此,CD117、CD133 及 CD44 能否作为卵巢癌干细胞标志物仍需进一步探讨。

乙醛脱氢酶(ALDH1)参与多种分子的代谢,同时在干细胞分化方面起一定作用^[15]。Silva 等^[16]研究 CD133 联合乙醛脱氢酶作为卵巢癌干细胞标志物时发现,在 CD133⁻的卵巢癌细胞系以及人卵巢癌原代细胞中分离出的 ALDH1⁺肿瘤细胞,成瘤能力明显高于 ALDH1⁻肿瘤细胞。ABCG2 是 ABC 转运体大家族的一个成员,可以主动的把具有不同化学结构和作用于细胞内不同靶点的化疗药物泵出细胞,从而引起肿瘤对多种抗癌药物产生抗性^[17]。该基因表达与 SP 细胞表型密切相关。本研究结果显示,ALDH1 及 ABCG2 在卵巢癌 SKOV3 SP 细胞与 non-SP 中表达有显著性差异,提示 ALDH1 及 ABCG2 可能是人卵巢癌干细胞特异性的分子标志物。

SOX2 是胚胎干细胞表面标志物之一,在诱导成体细胞向多能细胞转化方面有着至关重要的作用^[18]。NANOG 也是维持干细胞自我更新的关键转录因子^[19]。OCT 4 属于 POU 蛋白家族,具有维持干细胞多能性和自我更新的能力^[20]。本研究结果显示,SOX2、OCT 4 及 NANOG mRNA 在 SP 细胞中高表达,与 Non-SP 细胞相比差异显著。表明 SP 细胞高表达正常干细胞标志物,是 SP 细胞具备干细胞特性的实验依据之一,SOX2、OCT 4 及 NANOG 可能为卵巢癌干细胞标志物。

本研究检测并分选出卵巢癌 SKOV3 中具有癌干细胞特性的 SP 细胞,并研究了目前被广泛认可的肿瘤干细胞标志物在该细胞亚群上的表达情况,为筛选和确定卵巢癌干细胞标志物提供了重要的实验依据。

[参 考 文 献]

- [1] Schatton T, Murphy GF, Frank NY, et al. Identification of cells initiating human melanomas [J]. *Nature*, 2008, 451(7176): 345-349.
- [2] Hu L, McArthur C, Bjaaffe R, et al. Ovarian cancer stem like side-population cells are tumorigenic and chemoresistant [J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(8): 1276- 1283.
- [3] Yu D, Jin C, Liu Y, et al. Clinical implications of cancer stem cell-like side population cells in human laryngeal cancer [J]. *Tumor Biol*, 2013, 34(6): 3603-3610.
- [4] Ji YI, Lee BY, Kang YJ, et al. Expression patterns of thymosin β 4 and cancer stem cell marker CD133 in ovarian cancers [J]. *Pathol Oncol Res*, 2013, 19(2): 237-245.
- [5] Li SD, Howell SB. CD44-targeted microparticles for delivery of cisplatin to peritoneal metastases [J]. *Mol Pharm*, 2010, 7(1): 280-290.
- [6] Chen J, Wang J, Chen D, et al. Evaluation of characteristics of CD44⁺ CD117⁺ ovarian cancer stem cells in three dimensional basement membrane extract scaffold versus two dimensional mono-cultures [J]. *BMC Cell Biol*, 2013, 14: 7
- [7] Toren A, Bielorai B, Jacob-Hirsch J, et al. CD133⁻ Positive hematopoietic stem cell "Stemness" genes contain many genes mutated or abnormally expressed in leukemia [J]. *Stem Cells*, 2005, 23(8): 1142-1153.
- [8] Guo R, Wu Q, Liu F, et al. Description of the CD133⁺ subpopulation of the human ovarian cancer cell line OVCAR3 [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(1): 141-146.
- [9] Baba T, Convery PA, Matsumura N, et al. Epigenetic regulation of CD133 and tumorigenicity of CD133⁺; ovarian cancer cells [J]. *Oncogene*, 2009, 28(2): 209-218.
- [10] Broecker-Preuss M, Sheu SY, Worm K, et al. Expression and mutation analysis of the tyrosine kinase c-kit in poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinoma [J]. *Horm Metab Res*, 2008, 40(10): 685-691.
- [11] Fujio K, Everts RP, Hu Z, et al. Expression of stem cell factor and its receptor, c-kit, during liver regeneration from putative stem cells in adult rat [J]. *Lab Invest*, 1994, 70(4): 511-516.
- [12] Dos Santos C, McDonald T, Ho YW, et al. The Src and c-Kit kinase inhibitor dasatinib enhances p53-mediated targeting of human acute myeloid leukemia stem cells by chemotherapeutic agents [J]. *Blood*, 2013, 122(11): 1900-1913.
- [13] He QZ, Luo XZ, Wang K, et al. Isolation and characterization of cancer stem cells from high-grade serous ovarian carcinomas [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 33(1): 173-184.
- [14] Zhang S, Balch C, Chan MW, et al. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(11): 4311-4320.
- [15] Hegab AE, Ha VL, Bisht B, et al. Aldehyde dehydrogenase activity enriches for proximal airway basal stem cells and promotes their proliferation [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(6): 664-675.
- [16] Silva IA, Bai S, McLean K, et al. Aldehyde dehydrogenase in combination with CD133 defines angiogenic ovarian cancer stem cells that portend poor patient survival [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(11): 3991-4001.
- [17] Liang XJ, Aszalos A. Multidrug transporters as drug targets [J]. *Curr Drug Targets*, 2006, 7(8): 911-921.
- [18] Na J, Plews J, Li J, et al. Molecular mechanisms of pluripotency and reprogramming [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2010, 1(4): 33.
- [19] Theunissen TW, van Oosten AL, Castelo-Branco G, et al. NANOG overcomes reprogramming barriers and induces pluripotency in minimal conditions [J]. *Curr Bio*, 2011, 21(1): 65-71.
- [20] Medvedev SP, Shevchenko AI, Mazurok NA, et al. OCT4 and NANOG are the key genes in the system of pluripotency maintenance in mammalian cells [J]. *Genetika*, 2008, 44(12): 1589-1608.

[收稿日期] 2014 - 06 - 01

[修回日期] 2014 - 08 - 27

[本文编辑] 黄静怡