

肿瘤干细胞标志物CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1在非小细胞肺癌组织中的表达及临床意义

梁洪享^{1,2}, 钟 站³, 罗 勇⁴, 黄 燕², 丁昭珩², 丁 罡²

Expression and Significance of Cancer Stem Cell Markers CD133, CD44, SOX2, OCT4 and ALDH1 in Non-small Cell Lung Cancer

LIANG Hongxiang^{1,2}, ZHONG Hong³, LUO Yong⁴, HUANG Yan², DING Zhaocheng², DING Gang²

1. Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China; 2. Department of Oncology, Chongming Branch of Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine; 3. Department of Thoracic Surgery, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 4. Department of Respiratory Medicine, 5. Department of Pathology, Chongming Branch of Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine

Corresponding Author: DING Gang, E-mail: ddinggang@hotmail.com

Abstract: Objective To investigate the expression and significance of cancer stem cell markers CD133, CD44, SOX2, OCT4, ALDH1 in non-small cell lung carcinoma(NSCLC) and to look for cancer stem cells of NSCLC. **Methods** Seventy cases of NSCLC tissues and 14 cases of non cancer tissues were detected by immunohistochemistry for CD133, CD44, SOX2, OCT4 and ALDH1. **Results** Seventy NSCLC tissues, The positive expression rates of CD133, CD44, SOX2, OCT4 and ALDH1 were 88.57%, 98.57%, 100%, 100% and 100%, respectively. And strong positive expression rates were 48.57%, 67.14%, 67.14%, 31.43% and 50% respectively. The expression rates of CD133 and CD44 were significantly higher than those in non cancer tissues ($P < 0.0001$); The expression rates of SOX2, OCT4 and ALDH1 showed no significant difference between NSCLC and non cancer tissues ($P > 0.05$). The expressions of CD133, CD44, SOX2, OCT4 and ALDH1 were increased along with the pathology grades. The expressions of CD133, SOX2 and OCT4 were significantly higher in poor differentiated than those in the well differentiated ($P = 0.001, 0.040$ and < 0.0001). The expression of CD133 was significant difference ($P = 0.033, 0.001, 0.033, 0.046, P < 0.05$) in smoking history, differentiation, lymph node metastasis, staging factors. The expressions of CD44 and SOX2 were significant difference in age ($P = 0.001, 0.040$). **Conclusion** The positive expression rates of CD133, CD44, SOX2, OCT4 and ALDH1 were increased, and CD133 and CD44 expressions in NSCLC were significantly higher than those of non cancer tissue. CD133, SOX2 and OCT4 were associated with histological types and CD44 and SOX2 with ages.

Key words: Cancer stem cell; CD133; CD44; SOX2; OCT4; ALDH1; Non-small cell lung cancer; Immunohistochemistry

摘 要: 目的 研究肿瘤干细胞标记物CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1在非小细胞肺癌(NSCLC)组织中的表达及临床意义,为探索非小细胞肺癌肿瘤干细胞提供参考。**方法** 采用免疫组织化学方法检测70例NSCLC组织、14例非癌组织中的CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1蛋白

的表达并对结果进行分析。**结果** (1) CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1在70例NSCLC组织中的阳性表达率分别为88.57%、98.57%、100%、100%、100%,强阳性表达率分别为48.57%、67.14%、67.14%、31.43%、50%; CD133、CD44在NSCLC与非癌组织中的表达差异存在统计学意义(P 均

收稿日期: 2013-01-24; 修回日期: 2013-03-29

基金项目: 上海市科委资助项目(10411956700)

作者单位: 1. 200092 上海, 上海交通大学医学院; 2. 上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院肿瘤科; 3. 上海交通大学医学院附属新华医院胸外科; 4. 呼吸内科; 5. 上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院病理科

通信作者: 丁罡, E-mail: ddinggang@hotmail.com

作者简介: 梁洪享(1979-), 男, 硕士在读, 主治医师, 主要从事肺癌的基础与临床研究

<0.0001), SOX2、OCT4、ALDH1在NSCLC与非癌组织中的表达差异无统计学意义(P 均>0.05)。(2)随着病理级别的升高, CD133、CD44、SOX2、OCT4及ALDH1的表达呈上升趋势, 分化越低的NSCLC表达上述指标的概率越高, 其中CD133、SOX2、OCT4的表达在高、中、低分化组织中差异存在统计学意义(P 值分别为0.001、0.040、<0.0001); CD133的表达在吸烟史、分化程度、淋巴结转移、肿瘤分期四个因素上差异存在统计学意义(P 值分别为0.033、0.001、0.033、0.046); CD44与SOX2的表达在年龄上的差异存在统计学意义(P 值分别为0.001、0.040)。**结论** NSCLC组织中CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1阳性率高, CD133、CD44的表达明显高于非癌组织; CD133、SOX2、OCT4与NSCLC的恶性程度有关; CD44与SOX2与年龄因素有关。

关键词: 肿瘤干细胞; CD133; CD44; SOX2; OCT4; ALDH1; 非小细胞肺癌; 免疫组织化学方法

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A

0 引言

目前肿瘤方面的研究热点之一——肿瘤干细胞学说有望在肿瘤的预防、诊断及治疗上取得突破。肺癌是目前世界范围内发病率最高的恶性肿瘤, 但到目前为止尚未发现明确的非小细胞肺癌肿瘤干细胞及其特异性标志物。肺癌肿瘤干细胞是目前肺癌研究的热点之一, 针对非小细胞肺癌的肿瘤干细胞标志物的研究, 目前主要是参照其他肿瘤干细胞(如: 脑胶质瘤特征标记分子CD133、乳腺癌干细胞标志物CD44)或诱导多能干细胞的标志物(如: OCT4、SOX2、ALDH1等)。本研究采用免疫组织化学方法检测非小细胞肺癌的石蜡标本, 探索肿瘤干细胞标志物OCT4、CD44、SOX2、CD133、ALDH1在非小细胞肺癌组织中的表达及其生物学意义, 现总结如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2005年1月至2011年12月上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院施行手术切除的非小细

胞肺癌组织标本70例, 所有的病例病史资料完整, 术前未行放化疗。另外选取14例非癌组织(包括癌旁及炎性肺组织)石蜡标本作为对照组。所有标本均经10%甲醛固定、常规石蜡包埋、切片备用。

1.2 主要试剂

SOX2小鼠抗人抗体、OCT4小鼠抗人抗体, 来源于cell signaling technology 公司; CD133兔抗人抗体, CD44兔抗人抗体, ALDH兔抗人抗体来源于武汉博士德公司。

1.3 阳性结果判断

考虑到肿瘤干细胞只占肿瘤细胞中极少的一部分, 大约占1%~4%左右^[1], 因此免疫组织化学反应结果的评判标准参照Terpe等^[2]、许良中等^[3]、Horst等^[4]方法并作调整, 即计算阳性细胞的百分比结合染色强度进行评分, 判别标准为: 阳性细胞数为0则为阴性(0分), >0则为阳性, 阳性再分为强阳性(2分: 强染色强度细胞在阳性细胞中占比70%以上)、弱阳性(1分: 达不到强阳性条件的归为弱阳性)。

免疫组织化学二步法染色严格按照试剂说明书操作步骤进行, 抗原修复采用高压修复法, 阴性对照组: PBS磷酸缓冲液代替一抗作阴性对照, 阳性对照组: CD133以肝癌为阳性对照, CD44以扁桃腺为阳性对照, SOX2以乳腺癌为阳性对照, OCT4以精原细胞瘤为阳性对照, ALDH1以肝癌为阳性对照。

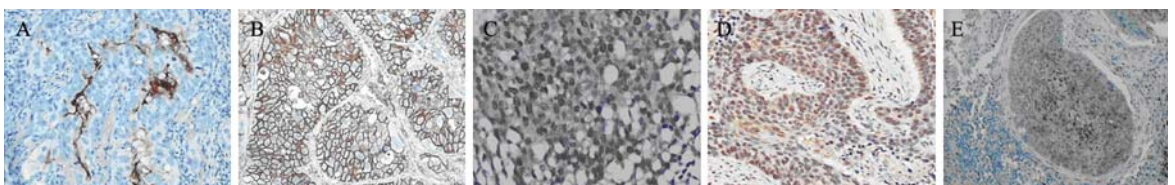
1.4 统计学方法

所有数据采用SAS 8.02软件包进行统计分析。CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1的表达率与病理分级的比较采用 χ^2 检验; CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1与临床资料(年龄、性别、吸烟、肿瘤大小、淋巴结转移等因素)的关系采用Logistic回归分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1在非小细胞肺癌组织与非癌组织中表达的差异

CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1蛋白阳性



A: CD133 is located in the cell membrane, with strong positive expression; B: CD44 is located in the cell membrane, with strong positive expression; C: SOX-2 is located in the nucleus, with strong positive expression; D: OCT 4 is located in the nucleus, with strong positive expression; E: ALDH1 is located in the cytoplasm, with strong positive expression

图1 CD133、CD44、SOX2、OCT4和ALDH1在非小细胞肺癌组织中的表达(IHC ×200)
Figure 1 The expression of CD133, CD44, SOX2, OCT4 and ALDH1 in NSCLC(IHC ×200)

表达为境界清晰、突出于背景的棕黄色。CD133阳性颗粒主要定位在细胞质和细胞膜，CD44蛋白主要定位于细胞膜，ALDH1定位于细胞质，SOX2定位于细胞核，OCT4定位于细胞核和细胞质，见图1。70例NSCLC组织中，CD133表达的阳性率为88.57%，其中强阳性表达率为48.57%；CD44表达的阳性率为98.57%，其中强阳性表达率为67.14%；CD133及CD44在NSCLC与非癌组织中的表达差异有统计学意义（ P 均 <0.0001 ），这说明了CD133、CD44的表达与NSCLC组织有关。SOX2、OCT4、ALDH表达的阳性率均为100%，其中强阳性表达率分别为67.14%、31.43%、50%；SOX2、OCT4、ALDH在NSCLC与非癌组织中的表达差异无统计学意义（ P 分别为0.837、0.068、0.331），见表1。

2.2 CD133、CD44、SOX2、OCT4及ALDH1与非小

细胞肺癌临床病理参数的关系

随着病理级别的升高，CD133、CD44、SOX2、OCT4及ALDH1的表达呈上升趋势，其中CD133、SOX2、OCT4的表达在高、中、低、分化NSCLC中差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）；CD133的表达在吸烟史、分化、淋巴结转移、分期四个因素上差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），而在病理类型、性别、年龄、肿瘤大小等方面差异无统计学意义；CD44的表达只在年龄因素上差异存在统计学意义（ $P<0.05$ ），而在性别、吸烟史、病理类型、病理分化程度、有无淋巴结转移、肿瘤大小、分期等方面差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）；SOX2的表达在年龄因素和病理分化程度上差异存在统计学意义（ $P<0.05$ ），而在性别、年龄、吸烟史、病理类型、有无淋巴结转移、肿瘤大小、分期等方面无统计学差异；OCT4的表达只在病理分化

表1 NSCLC与非癌组织中CD133、CD44、SOX2、OCT4、ALDH1的表达

Table 1 The expressions of CD133, CD44, SOX2, OCT4 and ALDH1 in non-small cell lung carcinoma and non-carcinoma tissue

Groups	n	CD133			CD44			SOX2		OCT4		ALDH1	
		0	1	2	0	1	2	1	2	1	2	1	2
NSCLC	70	8	28	34**	1	22	47**	23	47*	48	22*	35	35*
NCT	14	10	4	0	5	9	0	5	9	6	8	9	5

Note: CD133: cluster of differentiation 133; CD44: cluster of differentiation 44; SOX2: SRY-related high-mobility-group box 2; OCT4: octamer-binding protein 4; ALDH1: aldehyde dehydrogenase; NSCLC: non-small cell lung carcinoma; NCT: non-carcinoma tissue; NSCLC compared to NCT; *: $P>0.05$, **: $P<0.0001$

表2 CD133、CD44、SOX2、OCT4及ALDH1的表达与NSCLC临床参数的关系

Table 2 Correlation of the expressions of CD133, CD44, SOX2, OCT4 and ALDH1 to NSCLC clinical parameters

Parameters	n	CD133			CD44			SOX2		OCT4		ALDH1	
		0	1	2	0	1	2	1	2	1	2	1	2
Gender													
Male	54	7	22	25*	1	19	34*	15	39*	38	16*	27	27*
Female	16	1	6	9	0	3	13	8	8	3	13	8	8
Age													
≤65	30	2	11	17*	1	15	14**	6	24**	19	11*	15	15*
>65	40	6	17	17	0	7	33	17	23	39	11	20	20
History of smoking													
Yes	49	5	20	24**	1	17	31*	14	35*	34	15*	23	26*
None	21	3	8	10	0	5	16	9	12	14	7	12	9
Histological type													
SCC	40	5	18	17*	1	13	26*	11	29*	28	12*	20	20*
AC	30	3	10	17	0	9	21	12	18	9	21	15	15
Differentiated													
Well	13	5	5	3**	0	7	6*	8	5**	12	1**	9	4*
Mediate	29	1	16	12	1	9	19	9	20	25	4	14	15
Low	28	2	7	19	0	6	22	6	22	11	17	12	16
Size													
≤3cm	10	2	3	5*		3	7*	6	4*	8	2*	4	6*
>3cm	60	6	25	29	1	19	40	17	43	40	20	31	29
Lymph node													
Yes	34	4	14	16**	0	13	21*	9	25*	23	11*	20	14*
No	36	4	14	18	1	9	26	14	22	25	11	16	20
Metastasis													
Yes	4	0	2	2*	0	2	2*	2	2*	2	2*	1	3*
No	66	8	26	32	1	20	45	21	45	46	20	34	32
Staging													
I	24	4	11	9**	1	5	18*	12	12*	17	7*	10	14*
II	18	1	4	13	0	6	12	4	14	15	3	11	7
III	22	3	11	8	0	8	14	5	17	13	9	15	7
IV	6	0	2	4	0	3	3	2	4	3	3	2	4

Note: SCC: squamous cell carcinoma; AC: adenocarcinoma; the comparison of each group in the clinical parameters, *: $P>0.05$, **: $P<0.05$

程度因素上差异存在统计学意义 ($P < 0.05$),而在性别、年龄、吸烟史、病理类型、有无淋巴结转移、肿瘤大小、分期等方面差异无统计学意义 ($P > 0.05$); ALDH1的表达在性别、年龄、吸烟史、病理类型、病理分化程度、有无淋巴结转移、肿瘤大小、分期等方面差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表2。

3 讨论

目前肿瘤干细胞 (cancer stem cell) 理论认为,不是所有的癌症细胞都是一样的^[1],在睾丸癌、急性髓性白血病、乳腺癌、某些脑肿瘤、结肠癌中存在这样一种现象:大部分的癌细胞缺乏强增殖力,这些细胞在移植后也不能生成肿瘤;相反,少数具有不同表型的癌细胞具有强增殖能力和高致病性,这些少数细胞被称为“肿瘤干细胞”,它具有干细胞类似的自我更新、无限增殖能力^[5-6]。

目前主要通过检测肿瘤干细胞表面特殊的标志物来检测及分离肿瘤干细胞。并通过体内致瘤实验来验证所分离的具有某种标志的细胞具有肿瘤干细胞的特性,验证所分离出来的确实是肿瘤干细胞^[7]。最早确定的急性白血病肿瘤干细胞表型是CD34+CD38-Thy⁻^[8],脑胶质瘤特征标志分子CD133^[9],另外一个比较明确的肿瘤干细胞标志为乳腺癌肿瘤干细胞表型:CD44+CD24-/low^[10-11]。但是,令人遗憾的是,到目前为止,尚未发现肺癌干细胞的特异性标志物^[7]。目前,有关肺癌干细胞的研究主要参照其他肿瘤干细胞和人体多能干细胞的标志物(如:OCT4、SOX2、ALDH1等^[12])对肺癌进行研究。本研究以CD133、CD44、OCT4、SOX2、ALDH1为研究对象,研究它们在NSCLC组织中的表达情况。结果显示CD133、CD44、OCT4、SOX2、ALDH1在NSCLC组织中阳性表达率及强阳性表达率均很高,特别是CD133、CD44在NSCLC组织中的表达明显高于非癌组织。然而,虽然SOX2、OCT4、ALDH1表达的阳性率均为100%,强阳性表达率均为50%以上,但三者NSCLC与非癌组织中的表达无明显差异。这说明CD133、CD44更有希望成为NSCLC干细胞标记的主要指标,SOX2、OCT4、ALDH1为次要指标。

人CD133基因位于4号染色体,约152 kb,包含至少37个外显子,CD133蛋白为细胞膜蛋白超家族成员,为一个含有865个氨基酸、分子量约为120 kD的糖蛋白,其功能主要为在细胞及器官成熟过程中起转录调控作用。Tirino等^[13-14]在新鲜的肺癌组织标本中利用流式细胞仪分选出CD133+的细胞在体外培养表现出极强的生长能力,初步考虑CD133+有可能是非小细胞肺癌干细胞的标志。高表达CD133+细胞的非小细胞肺癌对铂类药物化疗耐药^[15]。但有研究指出,有些CD133-的肺癌细胞亦具有肿瘤干细胞的

性能^[16]。本研究发现CD133在NSCLC组织中的表达阳性率达88.57%,其中强阳性表达率为48.57%,明显高于非癌组织。随着病理级别的升高,CD133的表达呈上升趋势,这提示恶性度越高、分化越低的NSCLC表达CD133的概率越高;有吸烟史、有淋巴结转移、分期较晚的NSCLC组织中表达CD133的概率越高。而在年龄、性别、病理类型、肿瘤大小等方面CD133的表达未见明显差异。所以,CD133标志有助于肺癌干细胞的检测,但是否为肺癌干细胞特征性标志有待进一步研究。

CD44作为一种黏附分子,与恶性肿瘤的发生、发展关系密切。Leung等^[17]利用肺癌细胞株进行了一系列完整的实验及临床研究,首先检测肺癌细胞株表达5种干细胞标志(CD34、CD44、CD133、BMI1和OCT4)的情况,然后再对CD44+细胞成功进行体外及裸鼠体内致癌实验,使用细胞株H1299,结果CD44+细胞表达干细胞标志OCT4/POU5F1、NANOG、SOX2,而CD44-细胞则不表达。本研究关于CD44的结果是CD44表达的阳性率为98.57%,其中强阳性表达率为67.14%;它在NSCLC组织中表达明显高于非癌组织,这说明了CD44的表达与NSCLC组织有关。NSCLC中CD44的表达与年龄因素有关,大于65岁的高龄患者表达CD44的程度明显高于低龄患者,这提示老年NSCLC干细胞标志的差异性,可能有利于开展老年肺癌的基础研究。而在性别、吸烟史、病理类型、病理分化程度、有无淋巴结转移、肿瘤大小、分期等方面差异无统计学意义。这样的结果与参照乳腺癌干细胞标志CD44(+)/ESA(+)/CD24(-/low)对非小细胞肺癌的组织标本检测,发现乳腺癌干细胞标志与非小细胞肺癌的肿瘤大小、病理类型、分化及预后均无关^[18]的结果相仿。但有些研究发现CD44在肺鳞癌中的表达率为89.5%,并提示CD44可能是肺鳞癌干细胞的标志^[19]。本次研究未发现CD44在NSCLC组织腺癌和鳞癌中的表达存在差异。

SOX2、OCT4、ALDH1均是多能干细胞的标志物,也是胚胎干细胞的标志。肿瘤干细胞与胚胎干细胞在形态、功能及性质上极其相似,故可参考多能干细胞标志物对肺癌干细胞的标志物进行研究^[12]。SOX2是一个维持干细胞多潜能性的基因。SOX2是SOX基因家族的成员之一,它位于人3号染色体上,其编码的SOX2蛋白由317个氨基酸组成,包含N-末端未知功能域HMG域和一个具有转录激活区的C-末端,Sholl等^[20]研究提示94%的肺鳞癌干细胞表达SOX2,认为它是肺鳞癌干细胞的标志。OCT4也称OCT3,含352个氨基酸,相对分子质量18kD,位于人染色体6p21.3,属于POU转录因子家族的一员。POU家族转录因子都有一个OCT4,有研究发现OCT4分为OCT4-A和OCT4-B两种,其中,OCT4-A+参与肺腺

癌的形成^[21]。ALDH1是在干细胞分化早期催化视黄醇氧化为视黄酸的一种酶，ALDH1基因表达存在于细胞质中，位于染色体9q21，有53×10³个碱基对，共编码501个氨基酸序列。它是造血组织或其他一些组织中正常干细胞生长分化的必需物质，ALDH1广泛应用于乳腺癌^[22-23]、胆囊腺癌^[24]、前列腺癌^[25]、胰腺癌^[26]、肺癌^[27]干细胞的标志物。Sullivan等^[27]在肺癌干细胞的研究发现ALDH1(+)的肺癌细胞具有高度的致癌性、克隆性及自我更新能力，而抑制Notch信号通路可以减少ALDH1的合成。本研究发现SOX2、OCT4、ALDH1在NSCLC中表达的阳性率均为100%，其中强阳性表达率分别为67.14%、31.43%、50.00%，并且随着病理分级的升高，它们的表达亦提高，特别是SOX2、OCT4在低、中、高分化NSCLC组织中表达差异明显，这提示SOX2、OCT4、ALDH1有可能与NSCLC肿瘤干细胞标志有关，但这三个标志在非癌组织如癌旁组织、炎性组织中的表达也很高，它们在NSCLC与非癌组织中的表达差异无统计学意义。另外，与Sholl^[20]、Karoubi^[21]、Sullivan等^[27]不同的是，本次研究未见到SOX2、OCT4、ALDH1在NSCLC中腺癌、鳞癌组织中的表达有何差异。SOX2在NSCLC中的表达在年龄因素方面存在差异，与CD44在大于65岁的高龄患者中高表达不同，SOX2在65岁以下患者中存在高表达。

综上所述，恶性度越高、分化越低的NSCLC表达CD133、SOX2、OCT4的概率越高；有吸烟史、分化越低、有淋巴结转移、分期越晚的病例CD133的表达越高；大于65岁的高龄患者表达CD44增高，65岁以下的患者表达SOX2增高；病理分化越低SOX2、OCT4表达越高。肿瘤干细胞标志CD133、SOX2、OCT4有可能是肺癌干细胞的标志物；CD44、SOX2可能与老年NSCLC肺癌的差异性研究有关。本研究各个指标阳性率较高，考虑与免疫组织化学参照的评判标准有关，如考虑到肿瘤干细胞非常少，因此免疫组织化学参照的评判标准为见到有细胞染色即为阳性，这导致阳性表达率偏高。另外，个别组织出现成片的染色细胞，这可能与使用的抗体存在假阳性有关。这是本研究的不足之处，需进一步研究，比如行RT-PCR定量检测可以弥补。

参考文献:

[1] Xu XZ, Tong WM, Li J, *et al.* The molecular basis of cancer[M]. 3rd Edition. Beijing: Press of Science and Technology, 2011:113-4. [许智, 佟伟民, 李静, 等. 癌症的分子基础[M]. 第3版. 北京: 科技出版社, 2011:113-4.]

[2] Terpe HJ, Störkel S, Zimmer U, *et al.* Expression of CD44 isoforms in renal cell tumors. Positive correlation to tumor differentiation[J]. *Am J Pathol*, 1996, 148(2):453-63.

[3] Xu LZ, Yang WT. The criterion standard resultant of immunohistochemistry[J]. *Zhongguo Ai Zheng Za Zhi*, 1996, 6(4):229-30. [许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(4):229-31.]

[4] Horst D, Kriegl L, Engel J, *et al.* CD133 expression is an independent prognostic marker for low survival in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2008, 99(8):1285-9.

[5] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, *et al.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells[J]. *Nature*, 2001, 414(6859):105-11.

[6] Sakashita H, Ieta K, Haraguchi N, *et al.* Cancer stem cell[J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2007, 34(11):1721-9.

[7] Jiang Y, Liu YY, Zuo PP. Application of cancer stem cell theory in research of non-small cell lung cancer[J]. *Yi Xue Zong Shu*, 2011, 17(1):56-61. [姜尧, 刘雁勇, 左萍萍. 肿瘤干细胞学说在非小细胞肺癌研究中的应用[J]. 医学综述, 2011, 17(1):56-61.]

[8] Miyamoto T, Weissman IL, Akashi K. AML1/ETO-expressing nonleukemic stem cells in acute myelogenous leukemia with 8;21 chromosomal translocation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(13):7521-6.

[9] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, *et al.* Identification of human brain tumor initiating cells[J]. *Nature*, 2004, 432(7015):396-401.

[10] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, *et al.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(7):3983-8.

[11] Croker AK, Goodale D, Chu J, *et al.* High aldehyde dehydrogenase and expression of cancer stem cell markers selects for breast cancer cells with enhanced malignant and metastatic ability [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(8B):2236-52.

[12] Yuan Y, Zhong H. The progression of induced pluripotent stem cells[J]. *Shi Yong Yi Xue Za Zhi*, 2010, 26(6): 897-9. [袁源, 钟斌. 诱导多能干细胞的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(6): 897-9.]

[13] Tirino V, Camerlingo R, Franco R, *et al.* The role of CD133 in the identification and characterisation of tumour-initiating cells in non-small-cell lung cancer[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2009, 36(3):446-53.

[14] Liu D, Li WM, Mo XM, *et al.* Multiparametric flow cytometry analyzes the expressions of immunophenotype CD133, CD34, CD44 in lung cancer naive cells[J]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2008, 39(5):827-31. [刘丹, 李为民, 莫显民, 等. 多参数流式细胞术分析肺癌幼稚细胞免疫表型CD133、CD34、CD44的表达[J]. 四川大学学报(医学版), 2008, 39(5):827-31.]

[15] Bertolini G, Roz L, Perego P, *et al.* Highly tumorigenic lung cancer CD133+ cells display stem-like features and are spared by cisplatin treatment[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(38):16281-6.

[16] Meng X, Li M, Wang X, *et al.* Both CD133+ and CD133- subpopulations of A549 and H466 cells contain cancer-initiating cells[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(6):1040-6.

[17] Leung EL, Fiscus RR, Tung JW, *et al.* Non-small cell lung cancer cells expressing CD44 are enriched for stem cell-like properties[J]. *PLoS One*, 2010, 5(11):e14062.

[18] Lu ZQ, Li HG, Zhang HZ, *et al.* Expression and significance of CD44(+)ESA(+)/CD24(-/low), stem cell markers for breast cancer, in non-small-cell lung carcinoma[J]. *Ai Zheng*, 2008, 27(6):575-9. [吕志强, 李海刚, 张惠忠, 等. 乳腺癌肿瘤干细胞标志物CD44+ESA+CD24-/low在非小细胞肺癌组织中的表达及其意义[J]. 癌症, 2008, 27(6):575-9.]

[19] Shimada Y, Ishii G, Nagai K, *et al.* Expression of podoplanin, CD44, and p63 in squamous cell carcinoma of the lung[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(11):2054-9.

[20] Sholl LM, Long KB, Hornick JL. Sox2 expression in pulmonary non-small cell and neuroendocrine carcinomas[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2010, 18(1):55-61.

[21] Karoubi G, Cortes-Dericks L, Guggen M, *et al.* Atypical expression and distribution of embryonic stem cell marker, OCT4, in human lung adenocarcinoma[J]. *J Surg Oncol*, 2010, 102(6):689-98.

[22] Ginestier C, Hur MH, 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):555-67.

[23] Heerma van Voss MR, van der Groep P, Bart J, *et al.* Expression of the stem cell marker ALDH1 in BRCA1 related breast cancer[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2011, 34(1):3-10.

[24] Liu DC, Yang ZL, Jiang S. Identification of musashi-1 and ALDH1 as carcinogenesis, progression, and poor-prognosis related biomarkers for gallbladder adenocarcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2010-2011, 8(3):113-21.

[25] Doherty RE, Haywood-Small SL, Sisley K, *et al.* Aldehyde dehydrogenase activity selects for the holoclone phenotype in prostate cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 414(4):801-7.

[26] Kahlert C, Bergmann F, Beck J, *et al.* Low expression of aldehyde dehydrogenase 1A1 (ALDH1A1) is a prognostic marker for poor survival in pancreatic cancer[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:275.

[27] Sullivan JP, Spinola M, Dodge M, *et al.* Aldehyde dehydrogenase activity selects for lung adenocarcinoma stem cells dependent on notch signaling[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(23):9937-48.