

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.03.001

· 基础研究 ·

片仔癀对人卵巢癌 OVCAR-3 细胞增殖、凋亡及周期的影响 *

何凡^{1#} 巫慧妮^{2#} 成建定^{1△} 刘双高^{3△} 吴尚英² 胡晓芄⁴ 李丹诺⁴ 赵莹⁵

(1 中山大学中山医学院法医系 广东 广州 510080; 2 中山大学公共卫生学院预防医学系 广东 广州 510080;

3 军区总医院附属 157 医院综合内科 广东 广州 510510; 4 中山大学光华口腔医学院 广东 广州 510000;

5 第四军医大学口腔医学院 急诊与综合临床科 陕西 西安 710000)

摘要 目的: 研究片仔癀对人卵巢癌细胞株 OVCAR-3 增殖抑制作用, 及其对细胞周期、细胞凋亡的影响。**方法:** 采用 MTT 法观察片仔癀对人卵巢癌细胞株 OVCAR-3 细胞的增殖抑制率, 流式细胞仪检测细胞凋亡及细胞周期, western-blot 检测相关蛋白的表达。**结果:** 片仔癀以剂量依赖式抑制人卵巢癌细胞株 OVCAR-3 细胞增殖, 片仔癀 250、500、1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 作用于 OVCAR-3 细胞 24 h 后, 其早期凋亡率分别为 6.6%、30.9%、43.2%, 而对照组为 0%, 其诱导凋亡作用呈现剂量依赖性; 细胞积聚在 G0/G1 期, 同时 S 期细胞比例减少; Akt、PARP、CDK6 表达下调。**结论:** 片仔癀可以抑制 OVCAR-3 细胞增殖及诱导细胞凋亡作用, 并能阻滞细胞于 G0/G1 期, 有望成为卵巢癌治疗药。

关键词: 片仔癀; 卵巢癌; 细胞周期**中图分类号:** R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)03-401-04

Effects of Pien Tze Huang for Proliferation, Apoptosis and Cycle of Human Ovarian Cancer Cell OVCAR-3*

HE Fan^{1#}, WU Hui-ni^{2#}, CHENG Jian-ding^{1△}, LIU Shuang-gao^{3△}, WU Shang-ying², HU Xiao-peng⁴, LI Dan-nuo⁴, ZHAO Ying⁵

(1 Department of Forensic Medicine, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, 510080, China;

2 Department of Preventive Medicine, School of Public Health, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, 510080, China;

3 Internal Medicine Department of Guangzhou Military Command affiliated 157 Hospital, Guangzhou, Guangdong, 510510, China;

4 Guanghua School of stomatology, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, 510000, China; 5 Emergency treatment and comprehensive clinical division, Oral medicine of the fourth military medical university, Xi'an, Shaanxi, 710000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects of Pien Tze Huang on the proliferation, apoptosis and cycle of human ovarian cancer cell line OVCAR-3. **Methods:** To observe the effect of Pien Tze Huang on the OVCAR-3 cell proliferation inhibition rate by MTT method, to detect cell apoptosis and cycle by flow cytometry instrument detect the protein expression by western blot. **Results:** Pien Tze Huang in a dose dependent type inhibits the proliferation of human ovarian cancer cell line OVCAR-3 cells, Pien Tze Huang 250, 500, 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ acting on OVCAR-3 cells after 24 h, the early apoptosis rate were 6.6%, 30.9%, 43.2%, and 0% for the control group, the apoptosis is dose dependent; cell accumulation is in G0/G1 period, and the percentage of cells in S phase is decreased; there is a lower expression of Akt, PARP, CDK6. **Conclusion:** Pien Tze Huang can inhibit and induce the apoptosis of OVCAR-3 cell proliferation, and can block the cell in G0/G1 phase, it is expected to become a drug for the treatment of ovarian cancer.

Key words: Pien Tze Huang; Ovarian cancer; Cell cycle**Chinese Library Classification (CLC):** R737.31 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2014)03-401-04

前言

卵巢癌(ovarian cancer)是死亡率最高的妇科恶性肿瘤,因早期缺乏特异临床表现,大多数患者发现疾病时已进入晚期,其五年生存率较低^[1]。目前卵巢癌的治疗主要靠初次肿瘤细胞

减灭术(OPCS),术后辅以紫杉类和铂类药物联合应用的系统化疗。但由于化疗药物显著的副作用,及肿瘤细胞对化疗药物的耐受现象,化疗往往很难起到理想的效果。

片仔癀是我国传统名贵中成药,在中国和东南亚广泛使用,主要用于急性、慢性肝炎,脓肿、无名肿毒及一切炎症引起

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81172901)

作者简介:何凡(1991-),男,本科,主要研究方向:分子药理学和肿瘤表观遗传学,电话:13826064246

巫慧妮(1990-),女,本科,主要研究方向:分子流行病学与分子营养学,电话:13430337601

为共同第一作者

△ 通讯作者:成建定(1973-),教授,博士,博士生导师,主要研究方向:为分子病理学和细胞电生理学

刘双高(1980-),男,主治医师,主要研究方向:主要从事内科疾病的临床与基础研究

(收稿日期:2013-05-21 接受日期:2013-06-18)

的疼痛、发热等。现已有报道指出片仔癀有抗结直肠癌、肝癌等恶性肿瘤的功效^[2,3]。关于女性生殖道肿瘤还未见有研究报道,且片仔癀的有效成分和抗癌作用机制至今仍不清楚。因此,本实验拟从片仔癀调控 OVCAR-3 的细胞增殖,细胞凋亡和细胞周期等方面探讨片仔癀抗卵巢癌的作用,为其用于肿瘤治疗提供理论依据。

1 材料与试剂

1.1 仪器

流式细胞仪(Becton Dickinson Coltd, 美国);自动酶标仪(Bio-Tek Inc, 美国);CO₂ 培养箱(Thermo, 美国);X-22R 低温离心机(Beckman 公司, 德国)。

1.2 试剂

片仔癀来自漳州片仔癀药业股份有限公司,研磨成粉末于双蒸水中溶解,配制成 50 mg·mL⁻¹ 于 -20 °C 保存,使用时再加入培养基中配成 250 μg·mL⁻¹, 500 μg·mL⁻¹ 及 1000 μg·mL⁻¹ 的浓度。RPMI 1640 培养液(Gibco 公司);MTT (Sigma 公司);Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit(Bio Vision Inc, 美国);cycle test TM plus DNA reagent kit (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, 美国);其它试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 细胞培养

人卵巢癌细胞系 OVCAR-3 为本实验室常规培养,生长于含 10%小牛血清的 RPMI 1640 完全培养液中,于 37 °C 恒温、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中生长。取对数生长期细胞用于本实验。当细胞单层贴壁生长至 80%~90%融合时以 0.25%胰蛋白酶/EDTA 消化按 1:3 传代培养。

2.2 MTT 法检测细胞增殖

取对数生长期的卵巢癌细胞系 OVCAR-3, 消化并收集细胞。调整细胞密度为 1×10⁵ 个·mL⁻¹, 接种于 6 孔培养板中,分为不同浓度片仔癀组(终浓度分别为 250、500、1000 μg·mL⁻¹)、空白对照组(直接加等体积的 PBS),每组设 8 个复孔。每孔加入 5 mg·mL⁻¹ 的 MTT 溶液 10 μL, 37 °C 孵育 4h, 吸弃各孔中的液体,加入 DMSO 100 μL/孔。10 min 后于全自动酶标仪 570nm 测定各组吸光度值(即 A 值)。肿瘤细胞存活率计算公式为:存活率(%)=(实验组 OD 值 - 空白组 OD 值)/(实验对照组 OD 值 - 空白组 OD 值)×100%。

2.3 流式细胞仪

细胞凋亡:将 1×10⁵ 个·mL⁻¹ 的 OVCAR-3 细胞接种于 6 孔板中常规培养 24 h 后,不同浓度片仔癀干预 24 h 后,用不含 EDTA 的 0.25%胰蛋白酶消化,调整细胞的密度为 5×10⁵~5×10⁶ 个·mL⁻¹。取 1 mL 细胞用 PBS 离心洗涤,1000 r·min⁻¹、4 °C 离心 10 min,共 3 次,弃上清。用 500 μL 的 Binding Buffer 重悬细胞,加入 5 μL Annexin V-FITC 混匀后,再加入 5 μL 碘化丙啶(PI),混匀,室温避光反应 15 min,用流式细胞仪检测,并用软件分析结果。

细胞周期:将 1×10⁵ 个·mL⁻¹ 的 OVCAR-3 细胞接种于 6 孔板中常规培养 24 h 后,用不同浓度的片仔癀给药处理。培养 24 h 后收集细胞,调整细胞浓度至 1×10⁶ 个·mL⁻¹,用 70%的乙

醇在 4 °C 中过夜固定,经预冷的 PBS 洗 2 次,置于 RNase(8 μg·mL⁻¹)和 PI(10 μg·mL⁻¹)中孵育 30 min。用流式细胞仪检测,并用软件分析 OVCAR-3 的细胞周期。

2.4 Western-blot

检测不同浓度片仔癀处理 OVCAR-3 细胞 24 h 后 AKT、PARP 和 CDK6 蛋白表达的差异。依照 2×10⁵ 细胞/孔将 OVCAR-3 细胞接种至 6 孔板中,加 2 mL 培养液于每孔中。培养 24 h 后,再用浓度不同的 PZH (250、500、1000 μg·mL⁻¹)处理,处理 24 h 后进行细胞蛋白提取;收集细胞进行离心,用预冷的 PBS 冲洗 3 次;加入 200 μL 的蛋白裂解液冰上裂解 30 min;然后 13000×g 离心 20 min,取上清。Bradford 法检测样品中的蛋白浓度,加 buffer 变性蛋白,15%聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜,5%脱脂奶粉封闭 1 h,一抗孵育过夜,PBS 洗 3 次,二抗孵育 1 h,PBS 洗 4 次,显色后进行图像分析。

2.5 统计学处理

所有数据采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,数据用($\bar{x} \pm s$)表示。两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 ANOVA 方差分析。P<0.05 具有统计学意义。

3 结果

3.1 PZH 对卵巢癌细胞系 OVCAR-3 的增殖抑制作用

随着药物浓度从 0 升至 250、500、1000 μg·mL⁻¹ OVCAR-3 的细胞存活率从 100%逐渐降至 83%、70%、39%,其差异有统计学意义(P<0.05, 0.011),如图 1 所示。说明片仔癀可以显著抑制卵巢癌细胞系 OVCAR-3 的增殖。

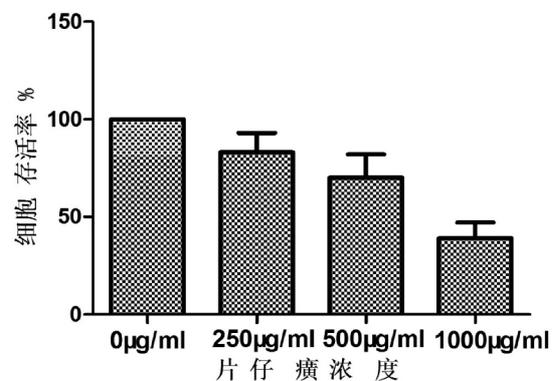


图 1 不同 PZH 浓度处理后 Ovcar-3 存活率

Fig.1 Survival ratio of Ovcar-3 treated by PZH with different concentrations

3.2 流式细胞仪分析 PZH 对肿瘤细胞 OVCAR-3 凋亡的影响

如图 2 所示, OVCAR-3 细胞对照组早期凋亡率为 0%, 而经不同浓度的 PZH (250、500、1000 μg·mL⁻¹) 作用 24 h 后, 随药物浓度的增加, 实验组 OVCAR-3 细胞早期凋亡率逐步增加, 分别为 6.6%、30.9%、43.2%, 说明 PZH 对肿瘤细胞 OVCAR-3 凋亡具有明显的剂量依赖性。

3.3 流式细胞仪分析 PZH 对 OVCAR-3 细胞周期的影响

PZH 作用于 OVCAR-3 细胞 24 h 后, 不同周期细胞的百分比用流式细胞仪分析, 如表 1 显示。和对照组比较, PZH 作用后的 OVCAR-3 细胞 S 期细胞比例明显减少, 对照组 33.343%,

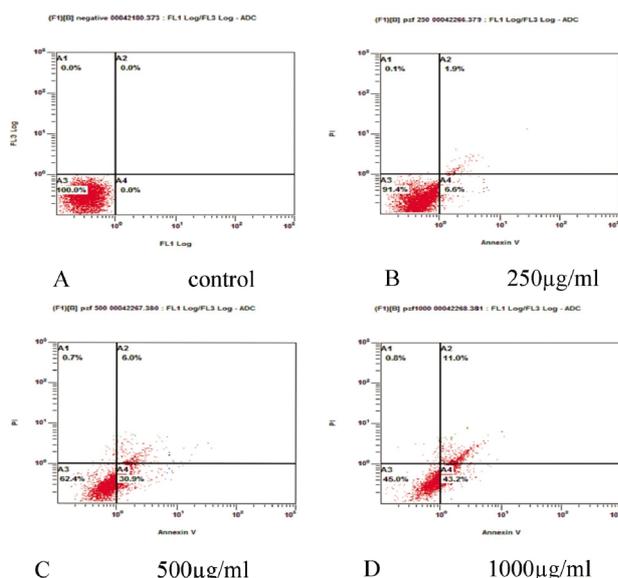


图2 流式细胞仪分析 PZH 对肿瘤细胞 OVCAR-3 凋亡的影响

Fig.2 Effects of PZH on the apoptosis of OVCAR-3 by flow cytometry analysis

PZH250、500、1000 μg·mL⁻¹ 作用后分别是 32.058%、30.868%、9.653%，差别有统计学意义(P<0.05, 0.018)；PZH250、500、1000 μg·mL⁻¹ 作用后 G0/G1 期细胞分别是 58.598%、69.132%、80.482%，对照组 58.442%，其差别有统计学意义(P<0.05, 0.042)。结果提示 PZH 能诱导细胞停滞在 G0/G1 期。

3.4 PZH 对 AKT、PARP、CDK6 的影响

western-blot 结果显示：AKT、PARP、CDK6 的表达随着 PZH 药物浓度的增高而明显下降，如图 3 所示，详细数据见表 1。说明 PZH 能够显著抑制 OVCAR-3 的 AKT、PARP、CDK6 的表达。

表 1 片仔癀对 OVCAR-3 细胞周期分布率的影响

Table 1 Effects of Pientzhuang on cell cycle distribution rate of OVCAR-3

Drug concentration (μg·mL ⁻¹)	Cell cycle distribution		
	%G0/G1	%G2	%S
0	58.442	8.215	33.343
250	58.598	9.344	32.058
500	69.132	0.000	30.868
1000	80.482	9.865	9.653

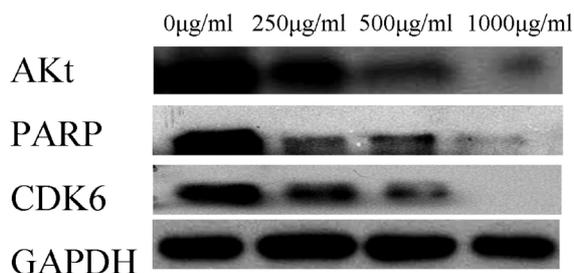


图 3 AKT、PARP、CDK6 的表达与 PZH 药物浓度的关系

Fig.3 The relationship between PZH drug concentration and AKT, PARP, CDK6 expressions

4 讨论

中药治疗肿瘤，源于古代中医药经验。中医对肿瘤的病因、病机及治法都有其理论解释，例如曾提出过“结者散之”的论述。中药治疗肿瘤机制包括直接抑制肿瘤细胞生长与增殖^[4]、调节免疫功能^[5]、改变癌基因表达、抑制癌细胞增殖^[6]、诱导肿瘤细胞凋亡^[7]、抑制肿瘤细胞侵袭和转移^[8-10]、调节肿瘤细胞信号通路^[11]、改善血流变学指标^[12]等。而针对片仔癀，研究表明片仔癀可通过下调 Pim-1 及 Pim-2 mRNA 的表达而诱导结肠癌 HT-29 细胞的凋亡，抑制 HT-29 细胞的增殖起到治疗结肠癌的作用^[13]；降低骨肉瘤 U-2OS 细胞 MMP-9 的表达，降低骨肉瘤细胞在人体的侵袭及迁移^[14]；对中晚期肝癌患者缓解症状也具有积极作用，并能直接作用于肿瘤细胞，部分成分还可以增强癌细胞的抗原性，从而增强机体对肿瘤的免疫反应^[15]。

肿瘤的恶性度与肿瘤的增殖、凋亡、周期密切相关，受体酪氨酸激酶(RTK)-磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)信号通路在调控这些过程中起重要作用^[16]。丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt，是众多生长因子具有酪氨酸激酶受体(RTK)的细胞信号传导通路中最重要的激酶^[17]。Altomare 等^[18]的研究结果表明卵巢癌组织中存在 p-AKT 蛋白的过表达，而 Huang Y 等^[19]认为 p-Akt 蛋白在卵巢浆液性腺癌中的表达远远高于卵巢良性肿瘤，有 Akt 表达的卵巢癌患者的五年生存率只有 15%，而无 Akt 表达的卵巢癌患者的生存率可以达到 80%，所以降低 Akt 的表达对于卵巢癌的预后十分重要。作者在 MTT 试验中观测到随着 PZH 浓度的增高，OVCAR-3 细胞的增殖明显受到抑制；与此同时，在 western blot 中观察到 AKT 随着药物浓度的升高而降低，提示 PZH 可能通过 AKT 的重要路径调控卵巢癌 OVCAR-3 细胞的增殖。二者都在提示着 PZH 可以调控 OVCAR-3 的细胞增殖。

DNA 修复酶——聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)在肿瘤的增殖和生长方面起到重要的作用，成为与肿瘤发生密切相关的一种酶。PARP 可被激活的 caspase-3 裂解，失去对损伤 DNA 的修复功能，导致细胞转向凋亡^[20]。10%-15%的上皮性卵巢癌是由于 BRCA1/2 基因突变导致的隐性遗传性疾病，对抑制 PARP 的药物特别敏感^[21]；Mukhopadhyay A 等^[22]报道，大约 50%-60%高度恶性的上皮性卵巢癌都有与 DNA 的同源重组修复途径有关的蛋白质功能的丧失，同样对抑制 PARP 的药物敏感。实验中发现 PARP 随着 PZH 浓度的增高而呈下降趋势，说明 PZH 可以在一定程度上抑制 PARP 的表达；另一方面，流式细胞术凋亡结果也显示了 PZH 可以诱导卵巢癌细胞明显的凋亡，药物 24 小时的早期凋亡率发现随着药物浓度的增加，OVCAR-3 细胞早期凋亡率均逐步增加，提示 PZH 有明显的诱导肿瘤细胞凋亡作用。

周期蛋白依赖性激酶 6(CDK6)，是细胞周期中 G1 期的重要调控分子之一，能够特异性地与周期蛋白 D(Cyclin D)结合形成复合物。Cyclin D-CDK6 复合物可以使下游分子 Rb 蛋白(retinoblastoma tumor suppressor protein, Rb)的丝氨酸或苏氨酸残基发生磷酸化，进而导致 Rb 蛋白和 E2F 的分离，促使细胞完成 DNA 复制，由 G1 期向 S 期转变^[23]。Sawiris 等^[24]通过对卵巢癌基因表达的系列研究观察分析发现 CDK6 在卵巢癌细胞中高表达。本实验中，作者在流式细胞术周期检测中发现 PZH

能够有效地把 OVCAR-3 细胞的细胞周期的抑制作用阻滞于 G1/S,阻止细胞由 G1 期进入 S 期,使其停滞在 G0/G1 期,使得 S 期细胞 DNA 的合成与复制受到抑制和阻断,从而有效地控制肿瘤细胞的生长。在 western blot 中 CDK6 的表达随着 PZH 的浓度升高而降低也和流式细胞仪的细胞周期的结果吻合。

综上所述,片仔癀可以抑制 OVCAR-3 细胞增殖及诱导细胞凋亡作用,并能阻滞细胞于 G0/G1 期,片仔癀有望成为抗卵巢癌药。然而片仔癀抑制肿瘤细胞增殖,诱导其凋亡的具体的机制、细胞通路等,我们将继续深入研究,为其今后用于卵巢癌的治疗提供更多的科学依据。

参考文献(References)

- [1] N. Howlader, A. M. Noone, M. Krapcho, et al. SEER Cancer Statistics Review, National Cancer Institute, Bethesda, Md, USA, 1975/2009, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2009_pops09
- [2] 陈志鸿, 易红梅, 李红玲, 等. 腹水离心石蜡切片联合免疫组化检测 CA125、CK7、Ki67 对卵巢癌的诊断价值 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(33): 6512-6514
Chen Zhi-hong, Yi Hong-mei, Li Hong-ling, et al. The Diagnostic Value of Ascites Centrifugate Paraffin Section and Immunohistochemical Detection of CA125, CK7 and Ki67 in Ovarian Cancer [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012, 12(33): 6512-6514
- [3] 赵乐, 纪新强, 刘静, 等. Nanog 基因在卵巢癌和卵巢肿瘤干细胞中的表达及意义 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(14): 2642-2646
Zhao Yue, Ji Xin-jiang, Liu Jing, et al. Expression and Significance of Nanog Gene in Ovarian Cancer and Ovarian Cancer Stem Cells [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012, 12(14): 2642-2646
- [4] Oliver Dorigo and Jonathan S, Berek. Personalizing CA125 Levels for Ovarian Cancer Screening [J]. Cancer Prevention Research, 2011, 4: 1356-1359
- [5] Anna H, Woodard, Jing Yu, et al. NY-BR-1 and PAX8 Immunoreactivity in Breast, Gynecologic Tract, and Other CK7+ Carcinomas: Potential Use for Determining Site of Origin [J]. Am J Clin Pathol, 2011, 136: 428-435
- [6] 郑翠娥, 孔雅, 余晓滢, 等. 肺抑瘤合剂对小鼠 Lewis 肺癌 P16, P53, cyclinD1 表达影响的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 2008, 15(2): 116-116
Zheng Cui-e, Kong Ya, Yu Xiao-ying, et al. Experimental research of Lung tumor mixture for Lewis lung carcinoma P16, P53, cyclinD1 expression in rats [J]. Chinese Medical Science and Technology, 2008, 15(2): 116-116
- [7] Marion T Weigel, Mitch Dowsett. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction [J]. Cancer, 2010, 17: 245-262
- [8] 陈良良, 梁华, 黄建飞. 丹参对 Lewis 肺癌自发性肺转移的作用及机理研究 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(2): 290-292
Chen Liang-liang, Liang Hua, Huang Jian-fei. The Effects of Danshen on the Growth and Metastasis of Lewis Lung Carcinoma and the Expression of MMP-9, VEGF [J]. Traditional Chinese Medicine, 2008, 26(2): 290-292
- [9] Ignacio Romero and Robert C. Bast, Jr. Minireview: Human Ovarian Cancer: Biology, Current Management, and Paths to Personalizing Therapy [J]. Endocrinology, 2012, 153: 1593-1602
- [10] 武加利, 纪新强, 刘佳, 等. 人卵巢癌干细胞的分离培养和初步鉴定 [J]. 现代妇产科进展, 2010, 19(12): 893-896
Wu Jia-li, Ji Xin-qiang, Liu Jia, et al. Isolation and initial identification of human ovarian cancer stem cells [J]. Prog Obstet Gynecol, 2010, 19(12): 893-896
- [11] Patricia Hartge, James L. Speyer. Finding Ovarian Cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2012, 104: 82-83
- [12] Cho DS, Choi JB, Kim YS, et al. Heart rate variability in assessment of autonomic dysfunction in patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome [J]. Urology, 2011, 78(6): 1369-1372
- [13] 魏丽慧, 林久茂, 彭军. 片仔癀对人结肠癌细胞增殖的影响 [J]. 福建中医药, 2010, 41(1): 56-57
Wei Li-hui, Lin Jiu-mao, Peng Jun. Effect of Pianzhihuang for Proliferation of Human Colon Cancer Cell [J]. Fujian Chinese Medicine, 2010, 41(1): 56-57
- [14] 张俐, 于波, 林建华. 中药片仔癀胶囊对骨肉瘤 U-2OS 细胞诱导凋亡的作用 [J]. 中国骨伤, 2009, 24(4): 511-515
Zhang Li, Yu Bo, Lin Jian-hua. Apoptosis induction of traditional Chinese herb Pianzhihuang in human osteosarcoma U-2OS cells [J]. Chinese Orthopaedics, 2009, 24(4): 511-515
- [15] B.L.K. Coles-Takabe, I. Brain, K.A. Purpura, et al. Don't look: growing clonal versus nonclonal neural stem cell colonies [J]. Stem Cells, 2008, 26(11): 2938-2944
- [16] A.K. Croker, A.L. Allan. Cancer stem cells: implications for the progression and treatment of metastatic disease [J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2008, 12(2): 374-390
- [17] Akt signaling pathway. Product Pathways. Cell Signaling Technology, Inc
- [18] H. Korkaya, A. Paulson, E. Charafe-Jauffret, et al. Regulation of mammary stem/progenitor cells by PTEN/Akt/ β -catenin signaling [J]. PloS Biology, 2009, 7(6): e1000121
- [19] Huang Y, Hua K, Zhou X, et al. Activation of the P13K/AKT pathway mediates FSH-stimulated VEGF expression in ovarian serous cyst adenocarcinoma [J]. Cell Res, 2008, 118(7): 780-791
- [20] E.H. Huang, M.J. Hynes, T. Zhang, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a marker for normal and malignant human colonic stem cells (SC) and tracks SC overpopulation during colon tumor igenesis [J]. Cancer Research, 2009, 69(8): 3382-3389
- [21] L. Vermeulen, M. Todaro, F. De Sousa Mello, et al. Single-cell cloning of colon cancer stem cells reveals a multi-lineage differentiation capacity [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(36): 13427-13432
- [22] Mukhopadhyay A, Elattar A, Cerbinskaite A, et al. Development of a functional assay for homologous recombination status in primary cultures of epithelial ovarian tumor and correlation with sensitivity to PARP inhibitors [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(8): 2344-2351
- [23] E. Charafe-Jauffret, C. Ginestier, F. Iovino, et al. Breast cancer cell lines contain functional cancer stem cells with metastatic capacity and a distinct molecular signature [J]. Cancer Research, 2009, 69(4): 1302-1313
- [24] E. Quintana, M. Shackleton, M.S. Sabel, D.R. Fullen, T.M. Johnson, et al. Efficient tumour formation by single human melanoma cells [J]. Nature, 2008, 456: 593-598