

化放疗对宫颈癌组织 SP 细胞和非 SP 细胞影响的初步研究

董超¹⁾, 高碧燕¹⁾, 吴星尧¹⁾ 杨毅¹⁾ 韦焘²⁾, 金从国¹⁾

(1) 昆明医科大学第三附属医院云南省肿瘤医院; 2) 昆明医科大学, 云南昆明 650118)

[摘要] **目的** 探讨化放疗前后宫颈癌组织中 SP 细胞和非 SP 的水平及其生物学特性的变化. **方法** 选取确诊宫颈癌患者 60 例 (IB2-III B 期), 30 例给予静脉化疗 2 程 PTX+DDP, PTX 175 mg/m², 静脉注射, 第 1 天; DDP 80 mg/m², 静脉注射, 第 1~3 天; 21 d 为 1 周期. 化疗组患者在化疗前和 2 程化疗后各取材 1 次. 30 例患者行根治性放疗, 放疗患者在放疗前和放疗 2 周后 (即大野照射 DT20 Gy/10 次) 各取材 1 次. 采用流式细胞技术检测和比较治疗前后宫颈癌组织原代培养细胞中 SP 细胞和非 SP 细胞的水平及其生物学标记的变化. **结果** 宫颈癌组织 SP 细胞水平在治疗后比例明显增加 [化疗前后 (1.63 ± 0.50) % vs (7.96 ± 1.39) %]; [放疗前后 (1.63 ± 0.46) % vs (4.51 ± 0.72) %], 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). SP 细胞生物学标记 (ABCG2、CD133、CD43、P63) 的表达率治疗前后无统计学差异, 而 Ki-67 和 MDR 在治疗后比例明显增加 [Ki-67 化疗前后 (14.77 ± 1.97) % vs (23.49 ± 2.23) %], [放疗前后 (14.61 ± 1.40) % vs (23.10 ± 1.82) %]; [MDR 化疗前后 (59.31 ± 11.13) % vs (68.91 ± 9.94) %], [放疗前后 57.42 ± 11.22 % vs 59.37 ± 10.73 %], 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). SP 细胞周期和细胞增殖状况在治疗前后无明显变化, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$). 非 SP 细胞生物学标记 Ki-67 和 MDR 在治疗后比例明显增加 [Ki-67 化疗前后 (40.48 ± 3.35) % vs (46.29 ± 3.71) %], [放疗前后 (40.22 ± 4.70) % vs (45.82 ± 4.55) %]; [MDR 化疗前后 (17.76 ± 1.61) % vs (34.36 ± 3.15) %], [放疗前后 (17.66 ± 1.71) % vs (19.21 ± 1.98) %], 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). 治疗后的非 SP 细胞在 G₀/G₁ 期和 S 期的比例明显下降, 在 G₂/M 期、凋亡和坏死比例明显增加, 差异均有统计学差异 ($P < 0.05$). **结论** 化放疗主要杀伤非 SP 细胞, 化放疗后的 SP 细胞保持肿瘤干细胞生物学特性, 对化放疗具有抗拒性, 这为进一步研究宫颈癌干细胞的靶向治疗奠定基础.

[关键词] 宫颈癌; SP 细胞; 生物学特性; 化放疗

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 08-0074-06

Effect of Chemoradiotherapy on Side Population Cells and Non Side Population Cells in Human Cervical Cancer

DONG Chao¹⁾, GAO Bi-yan¹⁾, WU Xing-rao¹⁾, YANG Yi¹⁾, WEI Tao²⁾, JIN Cong-guo¹⁾

(1) *The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Tumor Hospital, Kunming Yunnan 650018*; 2) *Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China*)

[Abstract] **Objective** To compare the proportion and biological characteristics of side population cells and non side population cells before and after chemoradiotherapy. **Methods** We selected 60 cases diagnosed as cervical cancer and staged IB2-III B, 30 cases were given paclitaxel at a dose of 175 mg/m² combined with cisplatin at a dose of 80 mg/m², the chemotherapy was repeated every 21 days. The human cervical cancer cells were obtained from fresh human cervical cancer tissue before chemotherapy and after two chemotherapy processes respectively. Another 30 cases received radiotherapy, the human cervical cancer cells were obtained from fresh human cervical cancer tissue before radiotherapy and two weeks after radiotherapy (wide field radiation DT20Gy/10F) respectively. Flow

[基金项目] 云南省卫生厅科学研究基金资助项目 (2010NS084)

[作者简介] 董超 (1979~), 女, 河南洛阳市人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤内科临床工作.

[通讯作者] 金从国. E-mail: jinhuang_2005@126.com

cytometry was used to isolate and compare the proportion and biological characteristics between side population cells and non side population cells from fresh human cervical cancer tissue before and after chemoradiotherapy. **Results** The proportion of SP cells had statistically significant difference between before and after treatment (before and after chemotherapy $1.63 \pm 0.50\%$ vs $7.96 \pm 1.39\%$, before and after radiotherapy $1.63 \pm 0.46\%$ vs $4.51 \pm 0.72\%$). The proportions of ABCG2, CD133, CD43 and P63 of SP cells had no statistically significant difference between before and after treatment, but the proportions of Ki-67 and MDR of SP cells were significantly higher than pretherapy and statistically significant difference (Ki-67 before and after chemotherapy $14.77 \pm 1.97\%$ vs $23.49 \pm 2.23\%$, before and after radiotherapy 14.61 ± 1.40 vs $23.10 \pm 1.82\%$; MDR before and after chemotherapy $59.31 \pm 11.13\%$ vs $68.91 \pm 9.94\%$, before and after radiotherapy $57.42 \pm 11.22\%$ vs $59.37 \pm 10.73\%$). There were no statistically significant differences in cell cycle or cell apoptosis of SP cells. The proportions of Ki-67 and MDR of non SP cells were significantly higher than pre-therapy and had statistically significant difference (Ki-67 before and after chemotherapy $40.48 \pm 3.35\%$ vs $46.29 \pm 3.71\%$, before and after radiotherapy $40.22 \pm 4.70\%$ vs $45.82 \pm 4.55\%$; MDR before and after chemotherapy $17.76 \pm 1.61\%$ vs $34.36 \pm 3.15\%$, before and after radiotherapy $17.66 \pm 1.71\%$ vs $19.21 \pm 1.98\%$). The proportions of non SP cells after therapy in G0/ G1 and S were significantly lower, but in G2/M and apoptosis were significantly higher. **Conclusions** Chemoradiotherapy might kill mainly non SP cells, the SP cells after chemoradiotherapy still keep the characteristics of cancer stem cells, and are resistant to chemoradiotherapy. This study lay the basis for further targeted therapy of cervical cancer stem cell.

[**Key words**] Cervical cancer; Side population cells; Biological characteristics; Chemoradiotherapy

最新数据显示, 宫颈癌目前是全球范围女性第二高发的恶性肿瘤^[1], 具有很强的侵袭力, 约有 35% 的宫颈癌患者出现复发和转移, 绝大多数都发生在最初治疗后的 3 a 内^[2], 且对放化疗的敏感度不高, 严重影响患者预后. 肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSC) 是一类存量较少, 同时具有肿瘤细胞和干细胞特征, 具有自我更新、多向分化潜能、高耐药性及高致瘤性的一群细胞, 它是肿瘤生长、侵袭、转移和复发的根源^[3]. 而侧群细胞 (side population cells, SP) 具有肿瘤干细胞特性^[4], 可以作为一种鉴定和分离干细胞的候选标志. 本研究采用流式细胞仪分选出人宫颈癌组织中 SP 细胞及非 SP 细胞, 检测和比较化放疗前后两种细胞的水平及其生物学特性的变化. 探讨以侧群细胞作为宫颈癌干细胞研究的切入点, 为进一步研究宫颈癌干细胞的靶向治疗策略奠定基础.

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 标本来源 选取 2010 年 6 月至 2012 年 6 月于昆明医科大学第三附属医院妇瘤科经宫颈活检确诊的宫颈癌标本 60 例 (均经患者或委托人知情同意, 临床及病理资料完整), 病理类型均为鳞癌. 宫颈癌分期和病理分级采用国际妇产科联盟的标准 (FIGO, 2009 年), 化疗组: 年龄 36 ~ 66 岁,

平均 50.7 岁. 其中 IB2 期 2 例, IIA 期 4 例, IIB 期 15 例, IIIB 期 9 例. 放疗组: 年龄 33 ~ 73 岁, 平均 50.3 岁. 其中 IB2 期 5 例, IIA 期 4 例, IIB 期 14 例, IIIB 期 7 例. 化疗组 30 例患者给予 PTX+DDP 化疗 2 疗程, PTX 175 mg/m^2 , 静脉注射, 第 1 天; DDP 80 mg/m^2 , 静脉注射, 第 1 ~ 3 天; 21 d 为 1 周期. 放疗组 30 例患者 (存在化疗禁忌症或因其它原因拒绝行化疗) 均采用直线加速器 6MV-X 盆腔大野照射 DT30 Gy/15 次 /3 周; 然后再行盆腔四野照射 DT20 Gy/10 次 /2.5 周, 在外照射剂量达 DT20 Gy /10 次 /2 周后同时加行后装腔内治疗, ¹⁹²Ir 源 A 点剂量 6Gy/ 次 / 周 (外照射结束后改 6 Gy/ 次, 2 次 / 周), A 点总剂量达 DT42 Gy. 宫颈癌标本取材: 化疗组患者在化疗前和 2 程化疗后各取材 1 次, 放疗组在放疗前和放疗 2 周后 (即大野照射 DT20 Gy/10 次) 各取材 1 次, 患者取膀胱截石位, 扩阴器充分暴露宫颈肿瘤, 用宫颈活检钳夹除表面坏死组织后, 再夹取新鲜肿瘤组织在 30 min 内送实验室.

1.1.2 实验试剂 DMEM/F12:1 培养基购自 Hyclone 公司, 胎牛血清 (FBS) 购自 Gibco 公司, 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 消化液、青链霉素混合液购自 Solarbio 公司, 碘化丙啶 (PI)、维拉帕米 (Verapamil hydrochloride)、Hoechst 33342、二甲基亚砜 (DMSO)、四甲基嘧啶蓝 (MTT) 和胶原酶 I 购自 Sigma-Aldrich 公司, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 购

自贝博生物公司. ABCG2-PE、CD133-PE、CD43-PE、P63-PE、Ki67-PE、MDR-PE 抗体均购自 BECKMAN COULTER 公司.

1.2 实验方法

1.2.1 宫颈癌细胞原代培养及细胞传代 在新鲜肿瘤组织边缘无坏死、钙化及电凝部位无菌取材, 将组织置入含青霉素 (100 000 U/L), 链霉素 (100 000 mg/L) 的无血清 RPMI-1640 培养基内, 并于 1h 内处理, 组织块置于培养皿中, 加入 RPMI-1640 液, 再用 RPMI-1640 液漂洗两次后剪成约 1 mm × 1 mm × 1 mm, 加入 0.25% 胰蛋白酶消化液置于 37 °C 消化 20 ~ 30 min, 细胞悬液纱布过滤后 1 000 r/min, 5 min 离心, 弃上清, 稀释成 10⁵/mL 浓度, 在 RPMI-1640+10% 小牛血清培养基中培养. 37 °C、5%CO₂ 饱和湿度条件下培养, 每 2 ~ 3 d 换液并传代 1 次, 以 0.02% EDTA-2Na 和 0.25% 胰蛋白酶的 1:1 混合液消化, 经 6 次传代选用对数生长期细胞为实验对象.

1.2.2 细胞染色 选用对数生长期细胞, 加入 EDTA-2Na 和胰蛋白酶混合消化液 1 mL, 再用含 2% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液重悬成 10⁶/mL 细胞悬液. 取 2 管各 1 mL, 一管仅加入 Hoechst33342, 另一管加入 Hoechst33342 和维拉帕米.

1.2.3 Altra 流式分选 SP 和非 SP 细胞 待分选细胞用 5 ~ 10 μg/mL 的 Hoechst33342 标记, 置于 37 °C 中摇床振荡 90 ~ 120 min, 用流式细胞仪进行分析和分组, 激发光为 350 nm, 采集波长为 450 nm 和 675 nm.

1.2.4 SP 细胞和非 SP 细胞来代标记分析 收集分选出的 SP 细胞和非 SP 细胞悬液, 离心半径 6 cm、1 500 r/min 离心 10 min, 弃上清, 各加至 1 mL, 制成单细胞悬液, 各设实验管和对照管, 每管细胞数 10⁶ 个, 实验管中加入 ABCG2-PE、CD133-PE、CD43-PE、P63-PE、Ki67-PE、MDR-PE 各 20 μL, 照管中不加, 混匀, 室温下避光静置 2 h, 流式细胞仪检测各个管中抗体阳性表达率.

1.2.5 流式细胞仪 TUNEL 法检测两种亚群细胞周期时相分布和细胞凋亡 分别收集宫颈癌组织原代培养 6 代细胞和 Hele 细胞株中 8 × 10⁶ 个 SP 细胞, 加入 500 μL 预冷 70% 的乙醇重悬, 冰上固定 30 min 后离心细胞, 同一样品分为两管, 分别加入 TDT 反应液及阴性对照液各 30 μL, 放置在 37 °C 下, 孵育 1 h; 加入 1 mL 含 0.2% BSA 的 PBS 洗涤, 700 r/min 室温离心 3 min; 去上清, 加入 10

mg/mL RANse 20 μL、0.1% Triton 200 μL, 放置在 37 °C 下, 孵育 15 min; 加入 100 μg/mL 的 PI 染液 1 mL, 避光放置 15 ~ 30 min. 采集后用 WincycleDNA 分析软件分析 FL3 单门中的周期, 得出 G₀/G₁ 期、G₂/M 期、S 期及 PI 等细胞生长特点. dUTP 标记显示早期凋亡细胞, dUTP 没有标记上同处于亚二倍峰位置表示坏死.

1.3 统计学处理

采用统计软件 SPSS 进行数据的统计处理, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 统计学处理采用 *t* 检验. *P* < 0.05 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 宫颈癌组织中 SP 细胞治疗前后水平及其生物学标志的比较

SP 细胞在治疗后比例明显增高, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 图 1、图 2; 生物学标记 Ki-67 和 MDR 在治疗后比例明显增高, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 细胞周期 (图 3 ~ 6) 和细胞增殖状况 (图 7 ~ 10) 治疗前后无明显差异 (*P* > 0.05), 表 1.

2.2 宫颈癌组织中非 SP 细胞治疗前后水平及其生物学标志的比较

生物学标记 Ki-67 和 MDR 在治疗后比例明显增高, 细胞周期各时相中 G₀/G₁ 期和 S 期比例明显下降, G₂/M 期和细胞凋亡坏死比例明显增加, 差异均有统计学差异 (*P* < 0.05), 见表 2.

3 群布

宫颈癌传统治疗方法手术、放疗和化疗, 都有一个共同的思路, 最大限度地清除肿瘤组织或杀灭肿瘤细胞, 减少肿瘤的体积和肿瘤细胞数量. 然而这些方法都有其局限性和不彻底性, 无法从根本上解决肿瘤的复发、转移及化学耐药问题. 研究发现肿瘤组织内的癌细胞生物学特性不尽相同, 即肿瘤组织内的细胞本身具有异质性, 大部分只有有限的增殖能力, 分裂数次后即死亡. 有一小部分细胞在数量上极少, 分化缓慢但其成瘤性较强, 具有与干细胞相似的自我更新^[1]、无限增殖和多向分化潜能的能力^[6], 并表达某些正常干细胞相同的细胞标记蛋白, 其抗凋亡能力、成瘤能力、迁移和侵袭能力等与分化程度较高的肿瘤细胞间存在差异, 将其称为肿瘤干细胞. 它在肿瘤形成和生长中起着决定性的作用, 又是形成不同分化程度肿瘤细胞的源泉和

表 1 宫颈癌组织中 SP 细胞治疗前后水平及其生物学标志的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of proportion and biological markers in SP cells in cervical cancer tissues before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

生物因素	化疗 (n = 30)		P 值	放疗 (n = 30)		P
	前	后		前	后	
SP 细胞	1.63 ± 0.50	7.96 ± 1.39	0.000	1.63 ± 0.46	4.51 ± 0.72	0.000
细胞生物学标记						
ABCG2	78.94 ± 5.61	79.49 ± 4.67	0.287	78.23 ± 5.29	78.70 ± 5.02	0.304
CD133	51.63 ± 5.25	52.42 ± 6.19	0.479	51.47 ± 7.27	51.29 ± 7.48	0.866
CD43	70.88 ± 6.28	70.20 ± 6.33	0.584	68.57 ± 4.90	69.38 ± 6.44	0.285
P63	47.65 ± 6.27	47.01 ± 6.58	0.079	47.48 ± 7.63	47.81 ± 7.66	0.197
Ki-67	14.77 ± 1.97	23.49 ± 2.23	0.000	14.61 ± 1.40	23.10 ± 1.82	0.000
MDR	59.31 ± 11.13	68.91 ± 9.94	0.000	57.42 ± 11.22	59.37 ± 10.73	0.000
细胞生物学特性						
G ₀ /G ₁	94.80 ± 1.62	94.92 ± 1.96	0.688	94.59 ± 1.90	94.09 ± 1.98	0.275
S	3.17 ± 0.92	3.19 ± 1.10	0.879	3.33 ± 1.06	3.64 ± 0.95	0.156
G ₂ /M	2.03 ± 1.04	1.88 ± 1.20	0.329	2.08 ± 1.17	2.27 ± 1.36	0.492
凋亡	4.02 ± 0.64	4.08 ± 0.77	0.426	4.09 ± 0.65	4.17 ± 0.64	0.209
坏死	0.98 ± 0.42	0.93 ± 0.42	0.421	1.02 ± 0.34	1.06 ± 0.37	0.337

表 2 宫颈癌组织中非 SP 细胞治疗前后水平及其生物学标志的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of proportion and biological markers in non-SP cells in cervical cancer tissues before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

生物因素	化疗 (n = 30)		P	放疗 (n = 30)		P
	前	后		前	后	
细胞生物学标记						
ABCG2	4.75 ± 1.14	4.66 ± 1.00	0.058	4.65 ± 1.06	4.66 ± 0.97	0.829
CD133	5.89 ± 1.13	5.85 ± 1.12	0.423	5.92 ± 1.28	6.05 ± 1.06	0.112
CD43	14.98 ± 2.30	14.87 ± 1.77	0.760	14.91 ± 1.80	15.09 ± 2.44	0.610
P63	6.53 ± 1.24	6.51 ± 1.24	0.083	6.55 ± 1.47	6.59 ± 1.46	0.170
Ki-67	40.48 ± 3.35	46.29 ± 3.71	0.000	40.22 ± 4.70	45.82 ± 4.55	0.000
MDR	17.76 ± 1.61	34.36 ± 3.15	0.000	17.66 ± 1.71	19.21 ± 1.98	0.000
细胞生物学特性						
G ₀ /G ₁	71.60 ± 4.21	64.80 ± 4.30	0.000	78.31 ± 5.29	74.80 ± 5.26	0.000
S	8.82 ± 1.49	8.60 ± 1.72	0.030	5.94 ± 1.73	4.79 ± 2.01	0.000
G ₂ /M	19.58 ± 3.40	26.60 ± 3.75	0.000	15.75 ± 3.84	20.41 ± 3.81	0.000
凋亡	4.53 ± 0.65	48.62 ± 6.01	0.000	4.07 ± 0.76	38.77 ± 4.84	0.000
坏死	1.41 ± 0.46	6.26 ± 1.09	0.000	1.39 ± 0.56	1.80 ± 0.71	0.014

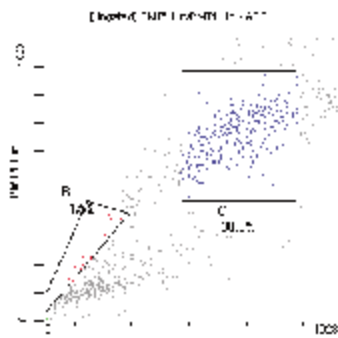


图 1 化疗前宫颈癌 SP 细胞水平

Fig. 1 Proportion of SP cells before chemotherapy

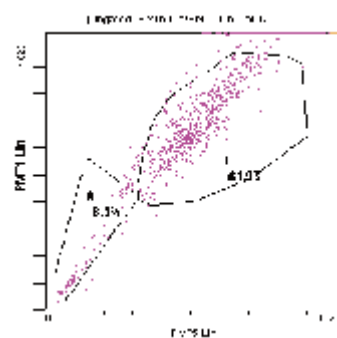


图 2 化疗后宫颈癌 SP 细胞水平

Fig. 2 Proportion of SP cells after chemotherapy

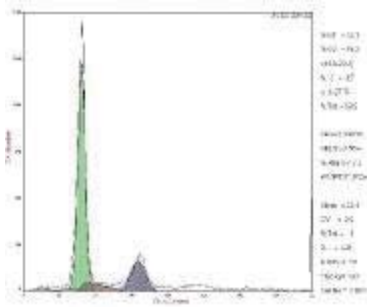


图 3 化疗前 SP 细胞周期
 Fig. 3 Cell cycle of SP cells before chemotherapy

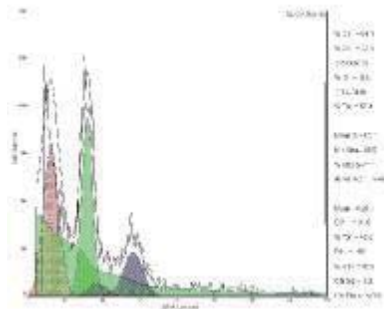


图 4 化疗后 SP 细胞周期
 Fig. 4 Cell cycle of SP cells after chemotherapy

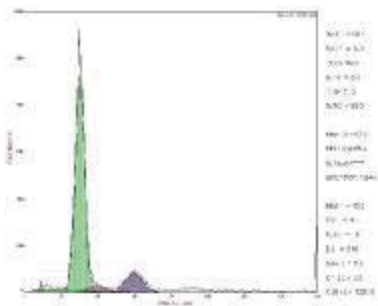


图 5 放疗前 SP 细胞周期
 Fig. 5 Cell cycle of SP cells before radiotherapy

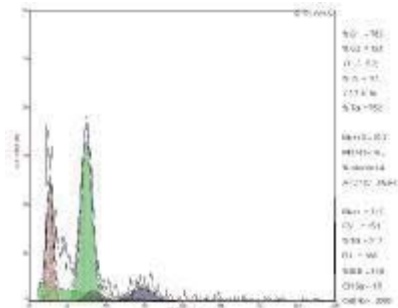


图 6 放疗后 SP 细胞周期
 Fig. 6 Cell cycle of SP cells after radiotherapy

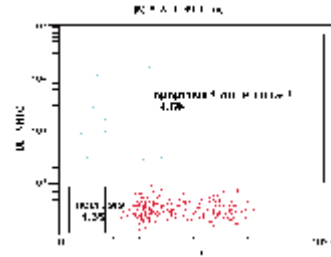


图 7 化疗前 SP 细胞凋亡时死
 Fig. 7 Apoptosis and necrosis of SP cells before chemotherapy

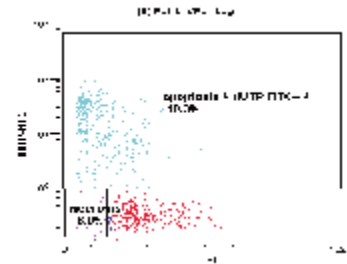


图 8 化疗后 SP 细胞凋亡时死
 Fig. 8 Apoptosis and necrosis of SP cells after chemotherapy

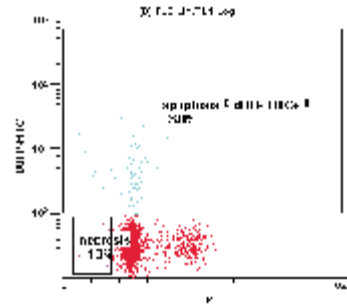


图 9 放疗前 SP 细胞凋亡时死
 Fig. 9 Apoptosis and necrosis of SP cells before radiotherapy

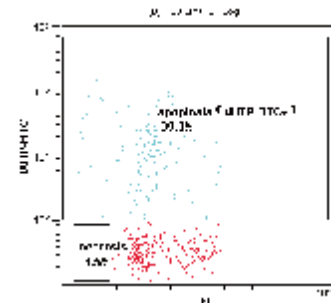


图 10 放疗后 SP 细胞凋亡时死
 Fig. 10 Apoptosis and necrosis of SP cells after radiotherapy

肿瘤无限增殖、复发和转移的根源. 研究表明多种恶性肿瘤的侧群细胞 (SP 细胞) 富集了肿瘤干细胞^[7], 可以作为干细胞研究的重要资源.

本研究对人宫颈癌组织进行原代培养 6 代细胞, 采用流式细胞技术分选出 SP 细胞和非 SP 细胞. SP 细胞表达肿瘤干细胞生物学标记 (ABCG2、CD133、CD43、P63 和 MDR), 虽然 SP 细胞仅占很少部分 ($1.63 \pm 0.50\%$), 但其生物学特性基本符合 CSC 的特征, 具有自我更新、强致瘤能力和高表达转运蛋白 ABCG2^[8] 等能力. 肿瘤干细胞的 ABCG2 的高表达, 是通过水解 ATP 供能将化疗药物泵出胞外, 导致细胞耐药, 这也是肿瘤耐药、复发的重要原因之一^[9]. 本研究结果显示, 化放疗前后宫颈癌组织 SP 细胞的各项生物学标记物 (ABCG2、CD133、CD43 和 P63) 无明显变化, SP 细胞周期和细胞增殖状态亦无明显改变, 提示 SP 细胞具有肿瘤干细胞的生物学特性, 对化疗和放疗具有抗拒性, 保持了肿瘤干细胞的特性. Ki-67 是一种核增殖标志基因, 反应细胞群体增殖活性, 与细胞周期蛋白密切相关, 通常被作为肿瘤细胞的增殖标记^[10], MDR 的高表达是肿瘤细胞产生化疗耐药的主要原因^[11]. 在本实验中, SP 细胞和非 SP 细胞在化放疗后 Ki67 和 MDR 的表达均呈增高趋势, 提升化放疗尽管对宫颈癌组织有一定的杀伤作用, 但也促进肿瘤细胞的增殖和耐药的发生, 这可能也是肿瘤发生复发和转移的原因之一, 因本研究病例数较少, 还需扩大样本做更深入的研究. 化放疗后宫颈癌病灶明显缩小, 提示化放疗主要杀伤非 SP 细胞, 因此 SP 细胞所占的比例明显增加 [化疗后 (7.96 ± 1.39) vs (1.63 ± 0.50); 放疗后 (4.51 ± 0.72) vs (1.63 ± 0.46)]. 而且化放疗对非 SP 细胞周期和凋亡都有明显的作用, 表现为处于 G₀/G₁ 和 S 期的非 SP 细胞比例明显减少, 治疗后使更多的非 SP 细胞进入 G₂/M 期, 细胞凋亡坏死比例明显增加, 提示化放疗加速非 SP 细胞的有丝分裂进程, 促进细胞的凋亡和坏死. 目前认为产生化疗抗拒性的可能机制是: (1) 肿瘤干细胞主要处于细胞周期 G₀ 期, 静止期很少进行分裂增殖, 故对很多抗肿瘤药物不敏感. (2) ABC(ATP 结合盒) 转运体的表达和降低凋亡, 使其对化疗药具有抗拒性. 肿瘤细胞内存在高效率的 DNA 修复是抗放疗的重要机制. 而 ABC 转运家族介导的多药耐药是其中最重要最关键的途径. (3) 通过基因移位突变、扩增等克隆进化过程, 导致肿瘤细胞常具有多药耐药特性^[12], 几乎所有癌细胞都表达对化

疗耐受的 ABCG 转运体.

大量研究显示恶性肿瘤的复发、抗辐射、转移以及耐药等特征都可能与肿瘤干细胞有关, 针对杀灭 CSC 的靶向治疗较传统的治疗方法可能更为有效地防止肿瘤的转移和复发. 靶向治疗既要针对肿瘤干细胞的治疗, 又要保护正常干细胞. 但两种细胞的表型十分相似, 因此需要进一步研究寻找更为特异的靶点. 本研究成功分离鉴定 SP 细胞富集宫颈癌干细胞的特性, 同时为研究针对宫颈癌干细胞的个性化靶向治疗及疗效评价提供模型, 对宫颈癌组织 SP 细胞的深入研究有望为宫颈癌的临床预防和诊治开辟新的思路, 从而推动宫颈癌靶向治疗新策略的研究进展.

[参考文献]

- [1] FERLAY J, SHIN H R, BRAY F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12):2 893 - 2 917.
- [2] PECTASIDES D, KAMPOSORAS K, PAPAXOINIS G, et al. Chemotherapy for recurrent cervical cancer[J]. *Cancer Treat Rev*, 2008, 34(7):603 - 613.
- [3] ZHANG M, ROSEN J M. Stem cells in the etiology and treatment of cancer [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2006, 16(1):60 - 64.
- [4] GREVE B, KELSCH R, SPANIOL K, et al. Flow cytometry in cancer stem cell analysis and separation[J]. *Cytometry A*, 2012, 81(4):284 - 293.
- [5] HADNAGY A, GABOURY L, BEAULIEU R, et al. SP analysis may be used to identify cancer stem cell populations [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(19):3 701 - 3 710.
- [6] MORRISON S J, KIMBLE J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer [J]. *Nature*, 2010, 441(7 097):1 068 - 1 074.
- [7] ERAMO A, LOTTI F, SETTE G, et al. Identification and Expansion of the tumor igenic lung cancer stem cell population [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(3):504 - 514.
- [8] KARLA PK, EARLA R, BODDU S H, et al. Molecular expression and functional evidence of a drug efflux pump (BCRP) in human corneal epithelial cells [J]. *Curr Eye Res*, 2009, 34(1):1 - 9.
- [9] GAO J X. Cancer stem cells: the lessons from precancerous stem cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(1): 67 - 96.
- [10] 苏静, 郑杰. 肿瘤增殖标记分子 Ki-67 和增殖细胞核抗原及其在病理诊断中的应用 [J]. *中华病理学杂志*, 2009, 38(8):568.
- [11] MURAKAMI S. Molecular mechanism of multi-drug resistance [J]. *Nihon Rinsho*, 2008, 66(1):193 - 203.
- [12] DOU J, GU N. Emerging strategies for the identification and targeting of cancer stem cell [J]. *Tumour Biol*, 2010, 31(4):243 - 253.

(2014-05-16 收稿)