

胰腺癌干细胞研究进展

胡海,江卫华,焦锋,王理伟

关键词:肿瘤干细胞;胰腺癌;研究进展
中图分类号:R735.9 文献标识码:A

0 引言

目前,胰腺癌的治疗已逐步从单一的外科手术切除过渡到多学科综合诊治,但其预后仍较差,平均生存期只有 6 月,总的 5 年生存率不到 5%^[1]。早期诊断困难、易转移、术后易复发、放化疗抵抗等是胰腺癌的主要特点,这也是医学工作者面临的重要难题。最近"肿瘤干细胞(CSC)学说"的提出燃起了人们解决这些问题的新希望。

自 Bonnet 等^[2]于 1997 年开创性地从人类急性髓细胞白血病(AML)中分离鉴定出白血病干细胞以来,科研人员不断的在乳腺癌、结直肠癌、前列腺癌等多种实体瘤中也分离出了 CSC。Reya 等^[3]正是在这期间提出了"CSC 学说",该学说认为肿瘤细胞中存在着极少量具有自我更新、无限增殖和多向分化潜能的细胞,它们与恶性肿瘤发生发展、侵袭转移、放化疗抵抗以及复发密切相关。对于胰腺癌,随着研究的深入,越来越多的证据表明胰腺癌干细胞介导了胰腺癌进展的多个阶段,是其治疗潜在的新方向。本文将对胰腺癌干细胞的研究进展作一综述。

1 胰腺癌干细胞的分离与鉴定

目前来说,鉴定某种细胞是否为肿瘤干细胞主要依据以下两个标准^[4]:(1)体外分选:鉴定其自我增殖、多向分化以及自我更新的能力,再通过核型分析证明其肿瘤特性;(2)体内致瘤能力:将候选细胞植入非肥胖糖尿病/重症联合免疫缺陷(NOD/SCID)小鼠皮下或器官特异位点,观察其致瘤性。科研人员通过上述标准鉴定出了包括胰腺癌在内的多种实体瘤 CSC。

分离胰腺癌干细胞的方法主要有以下几种:(1)特异的细胞表面标志物结合流式细胞术分选,如

CD44⁺CD24⁺ESA⁺、CD133⁺、ALDH1、c-Met 等。Li 等^[5]于 2007 年首次从手术标本分离到了 CD44⁺CD24⁺ESA⁺胰腺癌干细胞。首先,他们用流式细胞仪从胰腺癌组织中分离得到约 1%的 CD44⁺CD24⁺ESA⁺细胞,继而通过小鼠皮下成瘤实验确定这些细胞的致瘤性。结果发现:100 个 CD44⁺CD24⁺ESA⁺细胞注入 NOD/SCID 小鼠皮下,50%小鼠成瘤;而至少要 10⁴ 个 CD44⁻CD24⁻ESA⁻细胞注入 NOD/SCID 小鼠皮下才见移植瘤形成;可见 CD44⁺CD24⁺ESA⁺细胞的致瘤能力至少是 CD44⁻CD24⁻ESA⁻细胞的 100 倍。而且 CD44⁺CD24⁺ESA⁺细胞在其形成的移植瘤中的比例与初始手术切取癌组织相近;同时,该移植瘤也表达 SLOOP 以及 Stratifin 这两种胰腺癌特有的分化标志物,在组织学上与原发性胰腺癌高度相似,表明 CD44⁺CD24⁺ESA⁺细胞亚群具有自我更新能力。CD133 可作为表面标志筛选多种实体瘤 CSC。Olempska 等^[6]运用实时定量 PCR 检测发现 ABCG2(ATP-binding cassette sub-family G member 2)在细胞株 Panel、Panc89、Colo-357、PancTul 和 A818-6 中均显著高表达,而 CD133 只高表达于 PancTul 和 A818-6 细胞株。流式细胞术检测进一步验证 ABCG2 在 5 种细胞表面均表达,CD133 只表达于 A818-6 和 PancTul 细胞株表面。据此,他们认为胰腺癌中 ABCG2⁺/CD133⁺细胞可能是 CSC。Hermann 等^[7]研究验证了 Olempska 的假设,他采用磁珠分选系统分别从胰腺癌组织和胰腺癌细胞株 L3.6pl 中分离出了约 1.8% CD133⁺细胞;将 500 个该类细胞注入到 NOD/SCID 小鼠皮下,3 周就能从小鼠皮下分离到肉眼可见的肿瘤,且该移植瘤与初始胰腺癌的组织学特性相同;与之相对应的是 10⁶ 个 CD133⁻细胞注入 NOD/SCID 小鼠皮下也未见肿瘤形成。此外,其他的一些表面标志物也被用于胰腺癌干细胞的分离。Jimeno 等^[8]通过动物移植瘤模型发现胰腺癌中部分细胞明显高表达 ALDH1,并且这些细胞耐药性明显,表现出 CSC 的特性。Li 等^[9]研究表明 c-Met 介导了胰腺癌干细胞的生长与转移,可作为一种表面标志进行 CSC 的分选。Matsuda 等^[10]发现

收稿日期:2012-11-12;修回日期:2013-01-04
基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171887);上海产学研医项目子课题资助项目(11DZ1922002);上海松江医学攀登项目资助(2011PD07)
作者单位:201620 上海,上海交通大学附属第一人民医院肿瘤科
通信作者:王理伟,E-mail: yzwlw@yahoo.com
作者简介:胡海(1987-),男,硕士在读,主要从事肿瘤干细胞相关方面的研究

胰腺癌细胞是否高表达 Nestin 与其克隆球形成密切相关。Nestin 可以通过改变 CSC 样细胞的功能介导胰腺癌的浸润与转移,可能作为胰腺癌 CSC 的一个潜在标记分子。(2)特有的细胞功能结合流式细胞术分选,如 SP (side population) 细胞以及 DiI^+ /SCC 细胞。SP 细胞是细胞群体中少量可将进入细胞核的荧光染料 Hoechst33342 排出胞外,用荧光显微镜观察或流式细胞术检测时表现为不着色的细胞,它们具有 CSC 的特性。Zhou 等^[11]成功分离出人胰腺癌细胞株 PANC-1 中的 SP 细胞,并且发现使用吉西他滨处理后 SP 细胞的比例明显增加,据此认为胰腺癌 SP 细胞具有外排吉西他滨的能力。此外,胰腺癌 SP 细胞比 non-SP 细胞拥有较高的克隆形成能力和更强的成瘤能力^[12-14]。因此 SP 细胞可以作为胰腺癌 CSC 的分离方法之一。Dembinski 等^[15]以染料 DiI 为靶标通过 FACS 从细胞株 Panc03.27 和 BxPC-3 中分离得到了 3% DiI^+ 的慢周期细胞(DiI^+ /SCC),进一步研究发现该细胞亚群对 5-Fu 明显耐药,且具有多向分化的能力;与 DiI^- 的快周期细胞(DiI^- /FCC)相比, DiI^+ /SCC 具有更强的致癌性和浸润能力。值得注意的是,胰腺癌中的 $\text{CD44}^+ \text{CD24}^+ \text{ESA}^+$ 细胞、 CD133^+ 细胞、 ADLH^+ 细胞与 DiI^+ /SCC 存在部分重叠。可见,利用不同的方法我们能分离得到多种不同类型的胰腺癌干细胞,但是这些所谓 CSC 是否是真正意义上的 CSC,还值得商榷,因为有研究称这些细胞可能是胰腺癌祖细胞。因此,胰腺癌干细胞的分离和鉴定仍需要进一步的探讨。

2 胰腺癌干细胞的异常信号通路

干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞,正常情况下其增殖和分化是平衡的。和正常干细胞一样,CSC 也有多向分化和自我更新的能力以及相应的信号转导通路。一些与细胞增殖、分化相关的信号转导通路,对调节干细胞自我更新与分化起着重要的作用,但是在 CSC 中却异常激活。研究表明 Sonic Hedgehog (SHH) 及 BMI-1 等信号通路在胰腺癌干细胞自我更新中发挥着重要的作用。

Sonic Hedgehog (SHH) 为 Hedgehog (Hh) 的同源基因之一,在机体多种恶性肿瘤中能检测到它的异常高表达。早在 2003 年 Thayer 等^[16]就发现人类胰腺癌中 SHH 信号通路活性升高,通过诱导正常胰腺组织高表达 SHH 可以导致胰腺导管上皮内瘤变、K-Ras 基因突变、Her2/neu 表达上调,提示 Hedgehog 信号通路是胰腺癌的早期事件。Dembinski 等^[15]通过 RT-PCR 检测发现 DiI^+ /SCC 较 DiI^- /FCC 高表达 Hedgehog/TGF 信号通路组分。Li^[5]等也证实 SHH 信号通路参与了胰腺癌干细胞

的自我更新。他通过 RT-PCR 检测发现:与正常胰腺上皮相比,胰腺癌细胞 SHH 表达升高 4.1 倍, $\text{CD44}^- \text{CD24}^- \text{ESA}^-$ 细胞 SHH 表达升高 4.0 倍, $\text{CD44}^+ \text{CD24}^+ \text{ESA}^+$ 细胞 SHH 表达升高最明显,达 46.3 倍。Feldmann 等^[17]的研究进一步验证了 Thayer 和 Li 的结论,他发现 SHH 抑制剂环杷明能明显抑制 Smo 阳性胰腺癌细胞的增殖和转移。最近,国内也有研究表明环杷明在 Hedgehog 信号通路后不仅能抑制胰腺癌干细胞的增殖,还能逆转胰腺癌干细胞的耐药性^[18]。此外尚有研究发现绿茶的主要成分(-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) 也可以抑制 SHH 信号通路组分 smoothed, patched, Gli1 and Gli2 等的表达,进而抑制 CSC 的侵袭转移,为胰腺癌的防治提供了新的思路^[19]。

mTOR 信号通路是新近发现的胞内信号通路,该通路可汇聚和整合来自营养、生长因子、能量和环境压力对细胞的刺激信号,进而通过下游效应器 4EBP1 和 S6Ks 调节细胞的生长,研究表明它也和 CSC 的自我更新密切相关。Mueller 等^[20]发现胰腺癌干细胞 mTOR 信号通路异常活跃,他们将雷帕霉素(mTOR 通路的抑制剂)、环杷明和吉西他滨三药联合干预 CD133^+ CSC 时,发现 CD133^+ CSC 的数量显著减少,并且小鼠对该方案完全耐受;此外,该方案能显著延长人胰腺癌移植瘤模型小鼠的总生存期,提示 mTOR 信号通路积极参与了胰腺癌干细胞的自我更新与分化。原癌基因 BMI-1 是转录抑制因子基因 polycomb 家族成员,它通过调节端粒酶的活性控制细胞的增殖和凋亡。Lee 等^[21]首次发现 BMI-1 mRNA 在胰腺癌中高表达,尤其高表达于 $\text{CD44}^+ \text{CD24}^+ \text{ESA}^+$ CSC,与正常胰腺上皮之间有明显差异,提示 BMI-1 可能与胰腺 CSC 自我更新相关。

随着研究的深入,越来越多胰腺癌干细胞异常信号通路被发掘出来,这是进步也是挑战,发掘的信号通路越多,彻底认识它们也越难。现有研究多肯定了 CSC 存在异常信号通路,依旧缺乏对这些异常信号通路转导机制、影响因素以及与其他信号通路的相互关系等的研究,提示要深入认识胰腺癌干细胞,有必要多开展相关研究。

3 胰腺癌干细胞与转移

远处转移是胰腺癌预后差的原因之一。转移是一个连续的、包含多个步骤的且极为低效的过程,只有极少一部分肿瘤细胞能够最终形成肉眼可见的转移灶。现有研究倾向认为恶性肿瘤的转移与肿瘤干细胞相关,但仍缺乏充分的证据。

上皮-间质转化(EMT)是指上皮细胞在形态学上向成纤维细胞或间质细胞转变并获得迁移能力的过程,它是上皮来源肿瘤侵袭转移的主要机制。发

生播散的肿瘤细胞需要经 EMT 离开原发部位,同时这些细胞还必须具有自我更新及重新分化形成新肿瘤细胞的能力。据此,Mani 等^[22]推测 CSC 与 EMT 有密切联系,他们在诱导乳腺上皮细胞株 HMLEs 发生 EMT 过程时发现这些细胞还产生 CSC 样特征,如表达乳腺 CSC 表面标志 $CD44^+ / CD24^-$ 、获得体外克隆球形成能力。Dembinski 等^[15]发现源于细胞株 BxPC-3、Panc03. 27 的 DiI^+ / SCC 高表达 twist、vimentin 和 N-Cadherin 等 EMT 相关分子,提示 EMT 主要发生在 DiI^+ / SCC 中,说明具有 CSC 特性的 DiI^+ / SCC 更易出现 EMT 而发生转移。通过 Transwell 侵袭小室实验他们发现上述两细胞株中 DiI^+ / SCC 的穿膜细胞数分别是 DiI^- / FCC 的 4 倍和 4.5 倍,进一步验证了 DiI^+ / SCC 亚群的高侵袭性。Kabashima 等^[23]应用肝转移模型发现具备 CSC 特性的 SP 细胞也具有极强的转移潜能。与此相应的是,Quint 等^[24]发现经吉西他滨筛选出来的胰腺癌细胞也呈现类似 EMT 的过程,表现为表达 EMT 相关的表面标志;相类似的是,Salnikov 等^[25]发现缺氧诱导因子能诱导胰腺癌细胞产生 EMT,但是只有胰腺癌干细胞才能获得 EMT 赋予的转移潜能。Zhang 等^[26]也从整体层面研究了 EMT 与胰腺癌 CSC 的关系,他们发现 $CD44^+ CD24^+$ CSC 以及 $CD133^+$ CSC 广泛表达 EMT 相关表面标志如 vimentin 和 E-cadherin。

基质细胞衍生因子-1 (SDF-1) 是一种趋化因子,CXCR4 是其受体,它们的相互作用介导了恶性肿瘤的侵袭与转移。前期研究发现 CXCR4 在进展期胰腺癌表达明显升高^[27]。基于以上研究基础,Hermann 等^[7]比较了从细胞株 L3. 6pl 分离得到表面标志分别为 $CD133^+ CXCR4^+$ 、 $CD133^+ CXCR4^-$ 两类细胞的成瘤与转移能力,结果发现它们都能使 NOD/SCID 小鼠皮下成瘤,但仅能在 $CXCR4^+$ 组小鼠的循环血液中能检测到 $CD133^+$ CSC,并且该组小鼠还出现了肝转移。据此,他提出 CSC 可以分为转移性 CSC 与非转移性 CSC 的观点。但 CXCR 是否也表达于其他标志(例如 $CD44^+ CD24^+ ESA^+$) CSC 之中,如果是的话,这些 $CXCR^+$ 的细胞是否也对胰腺癌的转移起决定作用,这些问题有待进一步的确定。基于以上发现, $CD133^+ CXCR4^+$ 可以作为表面标志组合进行转移性胰腺癌干细胞分选。Singh 等^[28]使用吉西他滨联合 AMD3100 封闭胰腺癌细胞 CXCR4 后发现胰腺癌细胞的生长与转移都受到了抑制,很好的验证了 Hermann 的研究成果。

上述研究明确了 CSC 参与胰腺癌的转移,为胰腺癌的临床治疗提供了新导向。但是这些研究多只局限在细胞水平,忽略了机体环境对实验结果的影响,需进一步验证结果的可信度以实现向临床的跨

越。此外,Dembinski 和 Kabashima 的研究只是肯定胰腺癌 CSC 与胰腺癌转移相关,未阐述 CSC 如何介导胰腺癌的转移。

4 胰腺癌干细胞与放化疗抵抗

胰腺癌对放化疗不敏感,这已得到了学界的公认,相关的耐受机制有一定的进展,但有待深入。越来越多的研究显示胰腺癌干细胞介导了其对放化疗的抵抗。Hermann 等^[7]在利用吉西他滨干预 $CD133^+$ CSC、 $CD133^-$ 细胞时发现 $CD133^+$ CSC 对吉西他滨明显耐药,干预 5 天后其比例反而升高,达细胞总数的 50%。接着,他们用吉西他滨(125 mg/kg、每周 2 次、腹腔注射)干预接种过 10^6 个 L3. 6pl 细胞的小鼠 21 天,结果发现肿瘤体积明显缩小,但 $CD133^+$ CSC 的比例却明显上升,进一步验证了 $CD133^+$ CSC 的耐药性。Shah 等^[29]用治疗剂量的吉西他滨干预细胞株 L3. 6pl 和 AsPC-1 时发现细胞表现为选择性生长,这些生长的细胞(即耐药细胞)不仅发生 EMT,还高表达 $CD44$ 、 $CD24$ 和 ESA 等 CSC 相关的表面标志物。Lee 等^[21]通过 $CD44^+ CD24^+ ESA^+$ CSC 移植瘤模型也确证了胰腺癌干细胞对放化疗抵抗。他们用放疗联合吉西他滨化疗干预上述模型时发现移植瘤的生长不仅不被抑制反而受到刺激;深入研究表明 $CD44^+ CD24^+ ESA^+$ CSC 在吉西他滨的作用下不会凋亡,仅停止增殖,一旦停止用药,该细胞亚群又开始增殖和分化。Wang 等^[13]得出了与 Hermann 和 Shah 相似的结论,他们用含吉西他滨的培养液培养细胞株 Panc1 时发现,吉西他滨的持续作用可以富集 $CD133^+$ CSC;加大吉西他滨的剂量不能诱导 $CD133^+$ CSC 凋亡或死亡,而其他细胞则全部死亡。Singh 等^[28]的研究发现使用吉西他滨去杀伤经 CXCL12 处理过胰腺癌细胞,其毒性明显下降;用 ADM 抑制 CXCR4 后,吉西他滨的毒性又得以增强。据此,他们提出了胰腺癌化疗的新途径:细胞毒药物联合 CXCL12-CXCR4 轴抑制剂。

上述研究从整体层上肯定了胰腺癌干细胞对放化疗抵抗,但是至今仍无法解释它们耐受放化疗的原因。近些年普遍接受的理论认为,CSC 耐药主要与药物外排转运蛋白在 CSC 高表达相关,这种理论较为单一,也无法解释它们对放疗耐受的原因,相关机制研究有待深入。

5 存在的问题与展望

胰腺癌干细胞的研究尚处于初步阶段,存在许多问题同时面临众多挑战。首先,缺乏胰腺癌干细胞特异标志。相比胰腺癌干细胞,正常胰腺干细胞也低表达 $CD133$ 、 ESA 、 $CD44$;此外,胰腺干细胞与

胰腺癌干细胞具有相同的信号转导通路,所不同的是后者往往呈异常高激活状态。这意味着基于胰腺癌表面标志物和异常信号转导通路的靶向治疗在杀灭胰腺癌干细胞的同时也杀灭正常胰腺干细胞,这不利于患者在放化疗后的恢复;再者,对 CSC 微环境(即干细胞龛)的研究略显单薄。Jin 等^[30]早在 2006 年通过干预 AML 干细胞龛发现 AML CSC 的自我更新以及增殖都受到了抑制,强调了干细胞龛的重要性。在胰腺癌,现有研究的主体仍然是 CSC 本身,对干细胞龛的报道较少。

传统的放化疗针对的是多数无或低分化潜能的肿瘤细胞,无法根除其中的 CSC,而这些残留的细胞是恶性肿瘤复发、放化疗抵抗、侵袭转移的根源。CSC 理论为肿瘤的研究提供了一个新的视角,它突破了以往把肿瘤视为均一整体的研究思路,注重肿瘤细胞在组成、增殖分化以及放化疗抵抗等方面的异质性,强调恶性肿瘤的治疗在传统放化疗的同时还应辅以靶向治疗杀灭 CSC。总体说来,目前胰腺癌干细胞的研究面临问题较多,相信随着这些问题被逐步解决,越来越多的患者也将从中受益。

参考文献:

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* Cancer statistics, 2007[J]. CA Cancer J Clin, 2007, 57(1):43-66.
- [2] Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell[J]. Nat Med, 1997, 3(7):730-7.
- [3] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, *et al.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells[J]. Nature, 2001, 414(6859):105-11.
- [4] Vescovi AL, Galli R, Reynolds BA. Brain tumour stem cells[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(6):425-36.
- [5] Li C, Heidt DG, Dalerba P, *et al.* Identification of pancreatic cancer stem cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(3):1030-7.
- [6] Olempska M, Eisenach PA, Ammerpohl O, *et al.* Detection of tumor stem cell markers in pancreatic carcinoma cell lines[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2007, 6(1):92-7.
- [7] Hermann PC, Huber SL, Herrler T, *et al.* Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(3):313-23.
- [8] Jimeno A, Feldmann G, Suárez-Gauthier A, *et al.* A direct pancreatic cancer xenograft model as a platform for cancer stem cell therapeutic development[J]. Mol Cancer Ther, 2009, 8(2):310-4.
- [9] Li C, Wu JJ, Hynes M, *et al.* c-Met is a marker of pancreatic cancer stem cells and therapeutic target[J]. Gastroenterology, 2011, 141(6):2218-27.
- [10] Matsuda Y, Naito Z, Kawahara K, *et al.* Nestin is a novel target for suppressing pancreatic cancer cell migration, invasion and metastasis[J]. Cancer Biol Ther, 2011, 11(5):512-23.
- [11] Zhou J, Wang CY, Liu T, *et al.* Persistence of side population cells with high drug efflux capacity in pancreatic cancer[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(6):925-30.
- [12] Yao J, Cai HH, Wei JS, *et al.* Side population in the pancreatic cancer cell lines SW1990 and CFPAC-1 is enriched with cancer stem-like cells[J]. Oncol Rep, 2010, 23(5):1375-82.

- [13] Wang YH, Li F, Luo B, *et al.* A side population of cells from a human pancreatic carcinoma cell line harbors cancer stem cell characteristics[J]. Neoplasma, 2009, 56(5):371-8.
- [14] Zhang SN, Huang FT, Huang YJ, *et al.* Characterization of a cancer stem cell-like side population derived from human pancreatic adenocarcinoma cells[J]. Tumori, 2010, 96(6):985-92.
- [15] Dembinski JL, Krauss S. Characterization and functional analysis of a slow cycling stem cell-like subpopulation in pancreas adenocarcinoma[J]. Clin Exp Metastasis, 2009, 26(7):611-23.
- [16] Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW, *et al.* Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis[J]. Nature, 2003, 425(6960):851-6.
- [17] Feldmann G, Dhara S, Fendrich V, *et al.* Blockade of hedgehog signaling inhibits pancreatic cancer invasion and metastases: a new paradigm for combination therapy in solid cancers[J]. Cancer Res, 2007, 67(5):2187-96.
- [18] Huang FT, Zhuang-Sun YX, Zhuang YY, *et al.* Inhibition of hedgehog signaling depresses self-renewal of pancreatic cancer stem cells and reverses chemoresistance[J]. Int J Oncol, 2012, 41(5):1707-14.
- [19] Tang SN, Fu J, Nall D, *et al.* Inhibition of sonic hedgehog pathway and pluripotency maintaining factors regulate human pancreatic cancer stem cell characteristics[J]. Int J Cancer, 2012, 131(1):30-40.
- [20] Mueller MT, Hermann PC, Witthauer J, *et al.* Combined targeted treatment to eliminate tumorigenic cancer stem cells in human pancreatic cancer[J]. Gastroenterology, 2009, 137(3):1102-13.
- [21] Lee CJ, Dosch J, Simeone DM. Pancreatic cancer stem cells[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(17):2806-12.
- [22] Mani SA, Guo W, Liao MJ, *et al.* The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. Cell, 2008, 133(4):704-15.
- [23] Kabashima A, Higuchi H, Takaishi H, *et al.* Side population of pancreatic cancer cells predominates in TGF-beta-mediated epithelial to mesenchymal transition and invasion[J]. Int J Cancer, 2009, 124(12):2771-9.
- [24] Quint K, Tonigold M, Di Fazio P, *et al.* Pancreatic cancer cells surviving gemcitabine treatment express markers of stem cell differentiation and epithelial-mesenchymal transition[J]. Int J Oncol, 2012, 41(6):2093-102.
- [25] Salnikow AV, Liu L, Platen M, *et al.* Hypoxia induces EMT in low and highly aggressive pancreatic tumor cells but only cells with cancer stem cell characteristics acquire pronounced migratory potential[J]. PLoS One, 2012, 7(9):e46391.
- [26] Zhang Y, Wei J, Wang H, *et al.* Epithelial mesenchymal transition correlates with CD24 + CD44 + and CD133 + cells in pancreatic cancer[J]. Oncol Rep, 2012, 27(5):1599-605.
- [27] Koshiba T, Hosotani R, Miyamoto Y, *et al.* Expression of stromal cell-derived factor 1 and CXCR4 ligand receptor system in pancreatic cancer: a possible role for tumor progression[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(9):3530-5.
- [28] Singh S, Srivastava SK, Bhardwaj A, *et al.* CXCL12-CXCR4 signalling axis confers gemcitabine resistance to pancreatic cancer cells: a novel target for therapy[J]. Br J Cancer, 2010, 103(11):1671-9.
- [29] Shah AN, Summy JM, Zhang J, *et al.* Development and characterization of gemcitabine-resistant pancreatic tumor cells[J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(12):3629-37.
- [30] Jin L, Hope KJ, Zhai Q, *et al.* Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells[J]. Nat Med, 2006, 12(10):1167-74.