

头颈部鳞状细胞癌中肿瘤干细胞 生物标记物的研究进展*

李梦璐¹ 高伟¹ 吴勇廷¹ 郭培钰¹ 秦艺骁¹ 王文静¹ 翟宋玉¹ 王斌全¹

[关键词] 头颈部肿瘤;肿瘤干细胞;生物标记物

DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2021.09.020

[中图分类号] R739.91 [文献标志码] A

Research progress of cancer stem cell biomarkers in head and neck squamous cell carcinoma

Summary Cancer stem cells (CSCs), as a few amount of tumors, have infinite replication, self-renewal, differentiation and regeneration of cell subsets with tumorigenicity, have close relationship with tumor occurrence and recurrence, which can be found in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). One of the important measures to improve the patient prognosis is monitoring cancer stem cells and timely clinical intervention. Biomarker detection of cancer stem cells is an important method for clinical monitoring of cancer stem cells. This article reviews the biomarkers of CSCs in HNSCC, which is consist of membrane surface markers, non-coding RNAs, target genes and proteins.

Key words head and neck neoplasms; neoplastic stem cells; biomarker

头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)主要包括唇癌、口腔癌、口咽癌、唾液腺癌、下咽癌、喉癌等,其患病率位列全球恶性肿瘤第6位,并且每年新发确诊病例超过80万例^[1]。由于HNSCC预后不良,特别是晚期HNSCC治疗后常存在局部复发及远端器官的转移,具有较高死亡率^[2],生存率的改善并不乐观,因此亟待寻求一种新的方法对HNSCC进行早发现、早诊断、早治疗以期改善预后。研究发现,肿瘤中存在一小部分具备自我更新能力的细胞或干细胞特性的细胞亚群,通常会在较长时间内积累遗传变异,逃避其微环境的严格调控,进而促使肿瘤的发生,称之为肿瘤干细胞起源假说^[3-5]。这一假说作为一种重要的细胞生物学学说,被认为是肿瘤的发生形成、治疗后复发和远处转移的至关重要的驱动因素,多数学者认为传统抗肿瘤治疗后的复发可能与无法有效清除肿瘤组织残余的肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)有密切关系。

因此,基于HNSCC中CSCs生物标记物监测及靶向治疗策略不仅是传统抗肿瘤方法有效补充的重要方向,对于HNSCC发病机制及新型潜在治疗靶点的发现更具有重要意义^[6]。本文总结了目前HNSCC中CSCs的生物学特征(图1)和在临床诊断和治疗方面的最新进展。

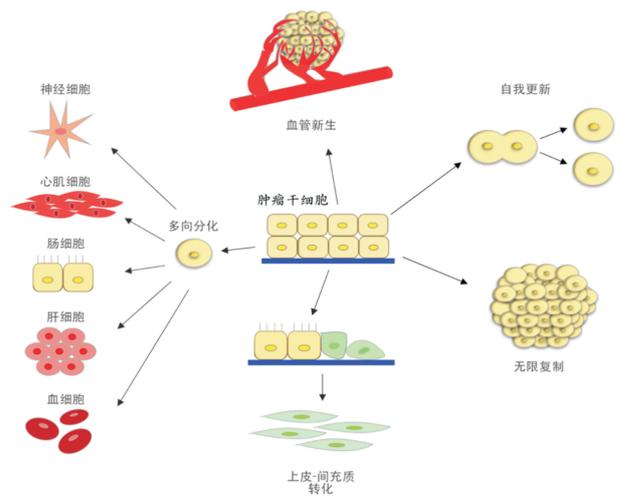


图1 肿瘤干细胞的生物学特征

1 表面标记物

1.1 CD44

CD44 抗原是一种黏附相关糖蛋白,在细胞间及与细胞外基质的互相结合中起重要作用^[7]。肿瘤细胞上高 CD44 的表达与 HNSCC 转移、发生发展和不良预后有关。在人类的 HNSCC 中 CD44+ 细胞具备干细胞的多种生物学特征,已经被用来标记并分离提纯 CSCs。Lu 等^[8]应用 CD44 作为特异性标记物,对 30 例有淋巴结转移(N+)和 36 例无淋巴结转移(N0)的原发性声门上型喉癌 CD44 阳性标本进行检测,阳性率分别为 43.33% 和 13.89%($P < 0.05$),因此,经识别被标记为 CD44 阳性的 CSCs 可能与声门上型喉癌的淋巴结转移有关。

*基金项目:国家自然科学基金项目(No:81872210)

¹山西医科大学第一医院耳鼻咽喉头颈外科 耳鼻咽喉头颈肿瘤山西省重点实验室(太原,030001)

通信作者:王斌全, E-mail:wbq_xy@126.com

1.2 CD133

CD133 抗原是一种跨膜连接糖蛋白,由五个跨膜结构域组成,在促成中枢神经系统肿瘤进程中产生重要作用,在造血干细胞、内皮祖细胞和各种正常组织干细胞中广泛表达。在白血病、肝癌、前列腺癌和咽癌中,CD133 主要在具备 CSCs 特征的细胞表面表达^[9]。此外,CD133 在结直肠癌中的过表达与肝转移和预后不良关系密切。近期,CD133 被定义为喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)的 CSCs 生物标记物。Wang 等^[9]报道 CD133 在 LSCC 中可能是一种比 CD44 更重要的分选 CSCs 的标记物,是声门上型喉癌中鉴别 CSCs 的生物标记物之一。Lv 等^[10]研究认为咽癌细胞群中可选取 CD133+细胞作为鼻咽癌干细胞。这些发现为喉癌干细胞的研究提供了新的参考,并为喉癌新的治疗策略的制定提供了可靠的依据。

2 非编码 RNA

2.1 微小 RNAs

微小 RNA (microRNAs, miRNAs) 是一类内源性非编码 RNA^[11],由 19~22 个核苷酸组成,通过碱基互补配对原则完全或部分地结合到靶基因的 3' UTR(3' untranslated region, 3' 非编码区),调控转录后翻译和修饰,在肿瘤的形成和发展过程中至关重要^[12]。miRNAs 可作为肿瘤抑制因子遏制肿瘤的增殖再生,也可以作为癌基因促进肿瘤的转移和复发^[13]。miRNAs 已经被证明是很有前途的肿瘤生物标记物,在诸多证据中表明与肿瘤的发生和发展密切相关。差异表达的 miRNAs 在 CSCs 中执行重要功能基因的调控^[10]。Sun 等^[14]研究指出,miR-34a 的高表达明显抑制了 HNSCC 中 CSCs 的上皮-间充质转化,显著降低了 HNSCC 细胞的持续增殖能力和侵袭能力。上述特性有助于开发针对 HNSCC 中 CSCs 的 miR-34a 的治疗方案或与现有的 HNSCC 治疗方案联合使用的新的治疗方案。

2.2 长链非编码 RNA

长链非编码 RNA (long noncoding RNAs, lncRNAs) 是一类无蛋白编码潜能的长度超过 200 个核苷酸的可通过转录、转录后和表观遗传学水平调控基因表达的非编码 RNA 分子。lncRNAs 主要应用于 HNSCC 的分子通路、互作机制和功能表型等方面。MIR31HG (NCBI 编号: NR 027054) 是最近发现的 lncRNAs, 可以通过促进细胞周期进程和抑制细胞凋亡等多种机制促进癌症的发生、发展和转移,抑制细胞衰老。鉴于其在 HNSCC 进展中具有关键作用, MIR31HG 可能是 HNSCC 的预后指标和可能的治疗靶标^[15]。Yuan 等^[16]通过喉癌的特征分析和生物信息学研究,已经确定 Linc-pint 是其中的一种 lncRNA, 在喉部肿瘤中表达下调。

Linc-pint 通过 3 个位点靶向 miR-425-5p, miR-425-5p 靶向 Hedgehog 途径的蛋白 ptch1。随后的细胞学实验证明 Linc-pint 的下调与肿瘤干性增加和对顺铂的化疗耐药有关。这些研究提示喉癌中 Linc-pint 的再表达可能是逆转癌细胞干性和挽救耐药表型的可能途径。Sun 等^[17]研究发现, MCM3AP-AS1 在多种癌症如肝细胞癌、胶质母细胞瘤和甲状腺乳头状癌等中被鉴定为致癌的 lncRNA, 同时研究得出, 过表达 MCM3AP-AS1 可促进鼻咽癌细胞增殖, 并抑制细胞凋亡。因此可将 MCM3AP-AS1 作为鼻咽癌干性调控的作用位点。赵雷等^[18]研究发现 LINC00152 在癌组织中高表达, 促进口腔鳞状细胞癌的增殖、侵袭和迁移能力, 与舌鳞状细胞癌的总生存时间、无病生存时间呈负相关, 与 LSCC 的组织分化程度、临床分期呈正相关, 但其在 CSCs 的相关功能尚未得到证实, 有望成为 HNSCC 诊断和预后的重要标志物。

2.3 环状 RNA

环状 RNA (circular RNAs, circRNA) 是一类近些年发现的新型的长链非编码 RNA 分子, 没有 5'-3'极性和 polyA 尾巴, 通过首尾结合形成连续的共价闭环。基于 circRNA 相对稳定的结构框架, 可以在组织中高度特异性表达。新兴证据发现, 数万种内源性 circRNA 大多存在于哺乳动物细胞中, 它们通过与 microRNA 或其他分子结合, 介导并调节基因转录或转录后翻译, 从而改变其功能表达。Yan^[19]等发现环状 RNA VRK1 (CircVRK1) 可以抑制乳腺癌干细胞的扩增和自我更新能力。Wu^[20]等从 LSCC TU-177 细胞中分离出具有干细胞标记的 CD133+CD44+细胞(称作 TDP 细胞), hg19_circ_0005033 是 TDP 细胞中上调的 circRNA 之一。实验发现 TDP 细胞的侵袭和迁移能力因敲降 hg19_circ_0005033 明显降低, 同时, TDP 细胞对顺铂等抗肿瘤药物的敏感性也显著增加。这些结果表明, circRNA hg19_circ_0005033 可能在 TDP 细胞的持续增生、浸润、迁移和肿瘤耐药中发挥关键作用, 可作为诊断或治疗的生物标记物, 为癌症的治疗和预后评价提供新的靶标。

3 编码基因

3.1 神经源性基因座缺口同源蛋白 1

神经源性基因座缺口同源蛋白 1 (neurogenic locus notch homolog protein 1, Notch1) 与多种恶性肿瘤的致瘤性、自我更新能力、分化再生能力和抗肿瘤作用等紧密关联。Lee 等^[21]在 HNSCC 中建立胞内缺口结构域(notch intracellular domain, NICD) 细胞, 分析在 SNU1041-NICD 细胞与 SNU1041-control 细胞中干细胞标记物的表达, 从而检测 NICD 细胞自我更新和无限增殖等干性调控能力。从 HNSCC 肿瘤组织获得的初级球体敲

除 Notch1, 这些细胞在体外和活体的干性相关特征减弱, 在原代 HNSCC 的 CSCs 中 Notch1 基因的敲除减弱了 CSCs 的特性, 并增强了顺铂的化疗增敏作用, 同时降低了 ABC 转运蛋白基因的表达。在 HNSCC 的 CSCs 异种移植模型中, 敲降 Notch1 基因可以显著抑制肿瘤的增殖再生能力, 进而提高了小鼠的存活率。申丽君等^[22] 研究发现敲除 Notch1 基因可提高体外培养鼻咽癌细胞的放疗敏感性; 由此, Notch1 基因可能作为 HNSCC 放化疗潜在的治疗靶点。

3.2 Zic 家族成员 2

Zic 家族成员 2 (the Zic family member 2, ZIC2) 基因由 5 个成员组成, 是果蝇奇数配对基因的脊椎动物同源基因, 编码锌指转录因子, 已被证实与包括癌症在内的多种疾病有关^[23]。Lv 等^[10] 利用基因表达谱芯片技术, 挖掘出鼻咽癌干细胞在 mRNA 和蛋白质水平上都富含 ZIC2, ZIC2 的表达可能受到多个 miRNAs 的调控, 进而影响鼻咽癌的进展。而 mir-DIP 和 TargetScan 数据库提示 ZIC2 与鼻咽癌 miR-873 之间有潜在关系。研究中 miR-873 与 ZIC2 存在分子间相互作用, 使得鼻咽癌干细胞的自我更新和肿瘤形成受到影响, 且与鼻咽癌患者生存率的改变密不可分。通过上调 miR-873 来降低 ZIC2 的水平, 可以减少鼻咽癌干细胞如球体形成、集落形成和增殖等许多恶性特征。同时, miR-873 通过抑制 AKT 信号通路来抑制 CSCs 的自我更新。总之, miR-873 可以通过 ZIC2 抑制 AKT 信号, 作为鼻咽癌的抑制剂, 从而限制 CSCs 的自我更新和鼻咽癌的形成和生长。

3.3 淋巴细胞抗原 6D

淋巴细胞抗原 6D (lymphocyte antigen 6D, LY6D) 存在于人类的 8q24.3 染色体上, 人类基因组学研究成功地确定了染色体 8q24 上与多种癌症有关的多个基因。LY6D 的高表达与多种肿瘤亚型、恶性程度、生存率降低、肿瘤复发及预后不良有关, 可作为 CSCs 中化学耐药性的生物标记物, 对隐匿性淋巴结转移同样意义重大。Wang 等^[24] 研究显示, LY6D 可能通过 LY6D 与 ATP 结合盒式亚家族 B 成员 11 (ATP Binding Cassette Subfamily B Member 11, ABCB11) 的相互作用增加肿瘤细胞的化疗耐药性, LY6D 基因敲除后化疗耐药性降低。同时, LY6D 蛋白位于桥粒中参与基质相互作用, 导致肿瘤细胞黏附和扩散。针对 LY6 基因家族成员中的抗体-药物结合物可用于肿瘤细胞靶向治疗, 以规避全身毒性。有文献报道, 提取 LY6K、CDCA1 和 IMP3 的抗原肽, 制备免疫治疗疫苗对 37 例晚期头颈肿瘤患者进行了 II 期临床试验, 结果表明该疫苗能改善晚期头颈部肿瘤患者的预后并延长生存期。LY6 基因家族已作为抗原肽应用

于肿瘤靶向治疗的临床试验, 这种新的方法可以克服化疗耐药性, 激发免疫反应, 提供靶向肿瘤治疗。

4 相关蛋白

4.1 胞浆酶乙醛脱氢酶异构体 1

胞浆酶乙醛脱氢酶异构体 1 (Aldehyde dehydrogenase cytosolic 1, ALDH1) 是一种在早期干细胞的分化进程中将视黄醇氧化为视黄酸的可能的 CSCs 标记物^[10]。ALDH1A1 作为其中的成员之一, 同样调节肿瘤干细胞的发生和进展^[25]。有研究表明^[10], 肿瘤活检常可观察到 ALDH 的表达和分布发生变化, ALDH1 的过度表达表明与口腔癌的增殖和转移相关, 并且也预示着和 HNSCC 的疾病进程相关。ALDH1 主要在具有较强侵袭性的肿瘤中被发现, 包括肿瘤区域及邻近的非肿瘤上皮组织。Luo 等^[26] 研究发现, ALDH1 高水平表达与肿瘤侵袭、淋巴结转移、晚期临床分期等侵袭性行为显著相关。此外, ALDH1 负性调控鼻咽癌患者的总体生存率。因此, ALDH1 被认为是 HNSCC 中高致瘤性细胞 (即 CSCs) 的可能标记物, ALDH1A1 可能是包括 HNSCC 在内的多种肿瘤中最有用的 CSCs 标记物。基于上述发现, 推测在鼻咽癌中高水平表达的 ALDH1 可以作为一种很有前途的预防和治疗方法。ALDH1 可能有助于改善头颈肿瘤患者的个体化治疗和术后临床管理。

4.2 干细胞标记物同源盒蛋白

干细胞标记物同源盒蛋白 (Homeobox protein, Nanog) 是参与哺乳动物胚胎和胚胎干细胞内细胞团自我更新和维持多能性的重要转录因子, Nanog 信号受多种多能干细胞调节剂 (如 Rex1、Sox2 和 Oct3/4) 相互作用的调控, 通过调节一组靶基因的表达共同控制胚胎干细胞的多能性。Stat-3 是一种可诱导的 DNA 结合蛋白, 可与肝急性期基因启动子中的 IL-6 反应元件结合。研究表明 Stat-3 在调节细胞生长、分化和存活方面有重要作用。Bourguignon 等^[27] 研究了 HNSCC 细胞中基质透明质酸诱导的 CD44 与干细胞标记物 Nanog 和 Stat-3 的相互作用。结果表明, HA 与 CD44 的结合促进了 Nanog-Stat-3 复合物的形成、核转位和转录激活。Nanog-Stat-3 信号通路可能与导致肿瘤细胞凋亡、死亡的功能有关, 可作为逆转 HNSCC 中 CSCs 化疗耐药的新靶标。

4.3 性别决定区域 Y 盒 2

性别决定区域 Y 盒 2 (sex determining region Y Box 2, SOX2) 是一种与鳞状细胞癌的干性相关的转录因子, Keysar 等^[28] 实验证据表明 SOX2 的组成性表达在 HNSCC 细胞中可产生类似 CSCs 样的细胞群体, PI3K 经由真核翻译起始因子 4E 介导靶向雷帕霉素 (mTOR) 信号特异性地上调 SOX2, PI3K 信号可增强 SOX2 的翻译。高表达

SOX2 使 PI3K/mTOR 效应因子水平增高,富集在血管和间质区域,从而诱导 CSCs 样信号,使肿瘤球体形成速度增加和化疗耐药性明显增强;低表达 SOX2 可以使肿瘤中间质样转录因子 SNAIL1 减少和上皮样黏附因子 E-cadherin 增加,致使 HNSCC 细胞的侵袭力降低,减缓 HNSCC 肿瘤的形成以及改善肿瘤耐药等。

4.4 IQ 结构域 GTPase 激活蛋白 1

IQ 结构域 GTPase 激活蛋白 1 (IQ-domain GTPase-activating proteins, IQGAP1) 是一种富含多种结构域的支架蛋白,包含四个 IQ 结构域、一个钙调蛋白同源结构域、一个 Ras-GAP 结构域和一个 WW 结构域^[29]。Bessède 等^[30]在与幽门螺杆菌诱导有关的胃癌试验中,使用 siRNA 降低 IQGAP1 导致 CD44 上调,在体外获得侵袭性和肿瘤球形成的 CSCs 特征。Carmon 等^[31]研究表明,LGR5 主要通过 IQGAP1-Rac1 途径发挥作用,以增强正常成人隐窝干细胞和结肠癌细胞中的细胞黏附。IQGAP1 在 LSCC 组织中高表达可增强喉鳞状细胞癌细胞无限增殖和侵袭迁移能力^[29]。目前,尚无关于 HNSCC 中 IQGAP1 干性的相关研究和报道,预测 IQGAP1 有望成为 HNSCC 新的研究靶点。

5 肿瘤干细胞样侧群细胞

多项研究发现^[32-34],关于肿瘤干细胞样侧群 (side population, SP) 细胞的研究大多是使用已建立的癌细胞系进行的。然而肿瘤组织中的癌细胞比任何癌细胞系都要复杂得多,我们尚不清楚 SP 细胞是否存在于肿瘤组织中。Wu 等^[35]在研究中用流式法从 LSCC 中分离到一个明显的 SP 亚群 [(4.45 ± 1.07)%]。LSCC 中对 SP 和非 SP (NSP) 细胞进行了与 CSCs 相关的检测,包括自我更新和 CSCs 标志基因的表达、增殖、分化、球体形成、化疗耐药性和致瘤性等。SP 细胞在体内和体外实验中,自我更新和 CSCs 标志基因的表达能力增强,增殖、分化和球体形成能力增强,对化疗的抵抗力增强,异种肿瘤致瘤性增强;基于这些实验,SP 细胞在免疫缺陷小鼠中具有较高的增殖、分化和球体形成能力。原代培养和分离纯化的喉鳞状细胞中包含肿瘤干细胞样的 SP 细胞,其能够用于构建喉鳞状细胞癌模型,具有重要的研究价值。以这些 SP 细胞为靶点,有望研发出治疗喉癌的有效靶向药物。

6 小结与展望

HNSCC 中的 CSCs 与肿瘤的发生、浸润、迁移和复发具有密不可分的联系。目前还没有 HNSCC 特异性肿瘤标记物,可以通过检测细胞膜表面标记物 CD44、CD133 等分离提纯 CSCs,可进一步寻找胞质和胞核中更多的肿瘤干细胞标记物。

针对通路和调控位点等分子机制的深入研究,有望靶向这些生物标记物,进而研发出新的治疗药物和开展新的治疗途径,为完善 HNSCC 的诊断、改善复发及预后提供新的思路。

参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Hildebrand LC, Carvalho AL, Lauxen IS, et al. Spatial distribution of cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinomas[J]. *J Oral Pathol Med*, 2014, 43(7): 499-506.
- [3] Mannelli G, Gallo O. Cancer stem cells hypothesis and stem cells in head and neck cancers[J]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38(5): 515-39.
- [4] Eun K, Ham SW, Kim H. Cancer stem cell heterogeneity: origin and new perspectives on CSC targeting[J]. *BMB Rep*, 2017, 50(3): 117-125.
- [5] Featherston T, Brasch HD, Siljee SD, et al. Cancer Stem Cells in Head and Neck Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Express Cathepsins[J]. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2020, 8(8): e3042.
- [6] Xiao M, Liu L, Zhang S, et al. Cancer stem cell biomarkers for head and neck squamous cell carcinoma: A bioinformatic analysis[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6): 3843-3851.
- [7] Saghravanian N, Anvari K, Ghazi N, et al. Expression of p63 and CD44 in oral squamous cell carcinoma and correlation with clinicopathological parameters[J]. *Arch Oral Biol*, 2017, 82: 160-165.
- [8] Lu S, Tian J, Lv Z, et al. The probable role of tumor stem cells for lymph node metastasis in supraglottic carcinoma[J]. *Pathol Oncol Res*, 2011, 17(1): 33-8.
- [9] Wang J, Wu Y, Gao W, et al. Identification and characterization of CD133 + CD44 + cancer stem cells from human laryngeal squamous cell carcinoma cell lines[J]. *J Cancer*, 2017, 8(3): 497-506.
- [10] Lv B, Li F, Liu X, et al. The tumor-suppressive role of microRNA-873 in nasopharyngeal carcinoma correlates with downregulation of ZIC2 and inhibition of AKT signaling pathway[J]. *Cancer Gene Ther*, 2021, 28(1-2): 74-88.
- [11] Zhao Q, Zheng X, Guo H, et al. Serum Exosomal miR-941 as a promising Oncogenic Biomarker for Laryngeal Squamous Cell Carcinoma[J]. *J Cancer*, 2020, 11(18): 5329-5344.
- [12] Gao W, Wu Y, He X, et al. MicroRNA-204-5p inhibits invasion and metastasis of laryngeal squamous cell carcinoma by suppressing forkhead box C1[J]. *J Cancer*, 2017, 8(12): 2356-2368.
- [13] Gao W, An C, Xue X, et al. Mass Spectrometric Analysis Identifies AIMP1 and LTA4H as FSCN1-Binding Proteins in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma[J].

- Proteomics, 2019, 19(21-22):e1900059.
- [14] Sun Z, Hu W, Xu J, et al. MicroRNA-34a regulates epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotype of head and neck squamous cell carcinoma in vitro[J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(4):1339-1350.
- [15] Wang R, Ma Z, Feng L, et al. LncRNA MIR31HG targets HIF1A and P21 to facilitate head and neck cancer cell proliferation and tumorigenesis by promoting cell-cycle progression[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):162.
- [16] Yuan Z, Xiu C, Liu D, et al. Long noncoding RNA LINC-PINT regulates laryngeal carcinoma cell stemness and chemoresistance through miR-425-5p/PTCH1/SHH axis[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12):23111-23122.
- [17] Sun P, Feng Y, Guo H, et al. MiR-34a Inhibits Cell Proliferation and Induces Apoptosis in Human Nasopharyngeal Carcinoma by Targeting lncRNA MCM3AP-AS1 [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12:4799-4806.
- [18] 赵雷, 池伟伟, 曹欢, 等. 长链非编码 RNA LINC00152 在喉鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2019, 33(8):721-725.
- [19] Yan N, Xu H, Zhang J, Xu L, Zhang Y, Zhang L, Xu Y, Zhang F. Circular RNA profile indicates circular RNA VRK1 is negatively related with breast cancer stem cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(56):95704-95718.
- [20] Wu Y, Zhang Y, Niu M, et al. Whole-Transcriptome Analysis of CD133+CD144+ Cancer Stem Cells Derived from Human Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(4):1696-1710.
- [21] Lee SH, Do SI, Lee HJ, et al. Notch1 signaling contributes to stemness in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(5):508-516.
- [22] 申丽君, 黄茂凌, 李祥攀, 等. Notch1 基因敲除后鼻咽癌细胞放疗敏感性的变化及分子机制[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2020, 34(1):64-69.
- [23] Ma G, Dai W, Sang A, et al. Roles of ZIC family genes in human gastric cancer[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1):259-266.
- [24] Wang J, Fan J, Gao W, et al. LY6D as a Chemoresistance Marker Gene and Therapeutic Target for Laryngeal Squamous Cell Carcinoma[J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(12):774-785.
- [25] Szafarowski T, Sierdziński J, Ludwig N, et al. Assessment of cancer stem cell marker expression in primary head and neck squamous cell carcinoma shows prognostic value for aldehyde dehydrogenase(ALDH1A1) [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 867:172837.
- [26] Luo WR, Gao F, Li SY, et al. Tumour budding and the expression of cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Histopathology*, 2012, 61(6):1072-1081.
- [27] Bourguignon LY, Earle C, Wong G, et al. Stem cell marker(Nanog)and Stat-3 signaling promote MicroRNA-21 expression and chemoresistance in hyaluronan/CD44-activated head and neck squamous cell carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2012, 31(2):149-160.
- [28] Keysar SB, Le PN, Miller B, et al. Regulation of Head and Neck Squamous Cancer Stem Cells by PI3K and SOX2[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2016, 109(1):djw189.
- [29] Wang X, He C, Li C, et al. IQGAP1 silencing suppresses the malignant characteristics of laryngeal squamous cell carcinoma cells[J]. *Int J Biol Markers*, 2018, 33(1):73-78.
- [30] Bessède E, Molina S, Acuña-Amador L, et al. Deletion of IQGAP1 promotes Helicobacter pylori-induced gastric dysplasia in mice and acquisition of cancer stem cell properties in vitro[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49):80688-80699.
- [31] Carmon KS, Gong X, Yi J, et al. LGR5 receptor promotes cell-cell adhesion in stem cells and colon cancer cells via the IQGAP1-Rac1 pathway[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(36):14989-15001.
- [32] Zheng D, Zhu G, Liao S, et al. Dysregulation of the PI3K/Akt signaling pathway affects cell cycle and apoptosis of side population cells in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(1):182-188.
- [33] Wang J, Guo LP, Chen LZ, et al. Identification of cancer stem cell-like side population cells in human nasopharyngeal carcinoma cell line[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(8):3716-3724.
- [34] Hoe SL, Tan LP, Jamal J, et al. Evaluation of stem-like side population cells in a recurrent nasopharyngeal carcinoma cell line[J]. *Cancer Cell Int*, 2014, 14(1):101.
- [35] Wu CP, Zhou L, Xie M, et al. Identification of cancer stem-like side population cells in purified primary cultured human laryngeal squamous cell carcinoma epithelia[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e65750.

(收稿日期:2020-10-23)