مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۵، شماره ۱، بهار ۹۴، صفحات ۱ تا ۱۵

Review Article

فارماکوژنومیک وسلول‌های بنیادی سرطان

محمد رضا نوری دلویی[۱]، نادرعبادی[۲]

[۱] استاد، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

فارماکوژنومیک در زمینه سرطان هم چنان به عنوان مناسب‌ترین راهکار برای درمان فردی بیماران در نظر گرفته می‌شود، اگرچه تاکنون کاربرد بالینی آنها به چند ژن محدود بوده است. در شماری از سرطان‌هارابطه بین ژنوتیپ و نتایج بالینی امیدبخش بوده است، اما از آن جا که اغلب مطالعات فارماکوژنومیک جاری به نقش در حال ظهور سلول‌های بنیادی سرطانی (cancer stem cells, CSCs) در حساسیت و مقاومت در برابر داروها توجهی نداشته است، نتایج پرفروغی حاصل نگردیده است. سلول‌های بنیادی سرطانی به عنوان یک ریز جمعیت سلولی در تومورها، ظاهرا تنها سلول‌های آغاز کننده تومورهای سرطانی در یک بدخیمی هستند و به همین دلیل در راس رده‌بندی سلول‌های سرطانی قرار می‌گیرند. با این حال، مطالعات فارماکوژنومیکی تفاوت‌های ژنتیکی موجود در مسیرهای پیام رسانی ویژه‌ای که در این سلول‌ها به نحو متمایزی از دیگر سلول‌ها فعال‌تر است، نادیده گرفته است. افزون بر این، در بسیاری از بدخیمی‌ها، سلول‌های بنیادی سرطانی نشان دهنده یک زیرجمعیت نادر است. بنابراین، کل نیمرخ بیانی تومورها ممکن است در اصل تحت تاثیر الگوهای بیانی سلول‌های بنیادی سرطانی باشند. در این مقاله مروری، شواهد موجود در مقامت دارویی سلول‌های بنیادی سرطانی مورد بررسی قرارگرفته و نشان داده شده است که چگونه تغییرات ژنتیکی رایج در ژن‌های مربوط به سلول‌های بنیادی سرطانی ممکن است پیش بینی کننده پاسخ فرد به عامل‌های ضد سرطانی باشد. هم چنین، دیدگاه‌ها و راهکارهای جدید در شناسایی این سلول‌ها مورد بحث قرار گرفته است.

واژگان کلیدی: *فارماکوژنومیک، سرطان، سلول‌های بنیادی سرطانی.*

مقدمه

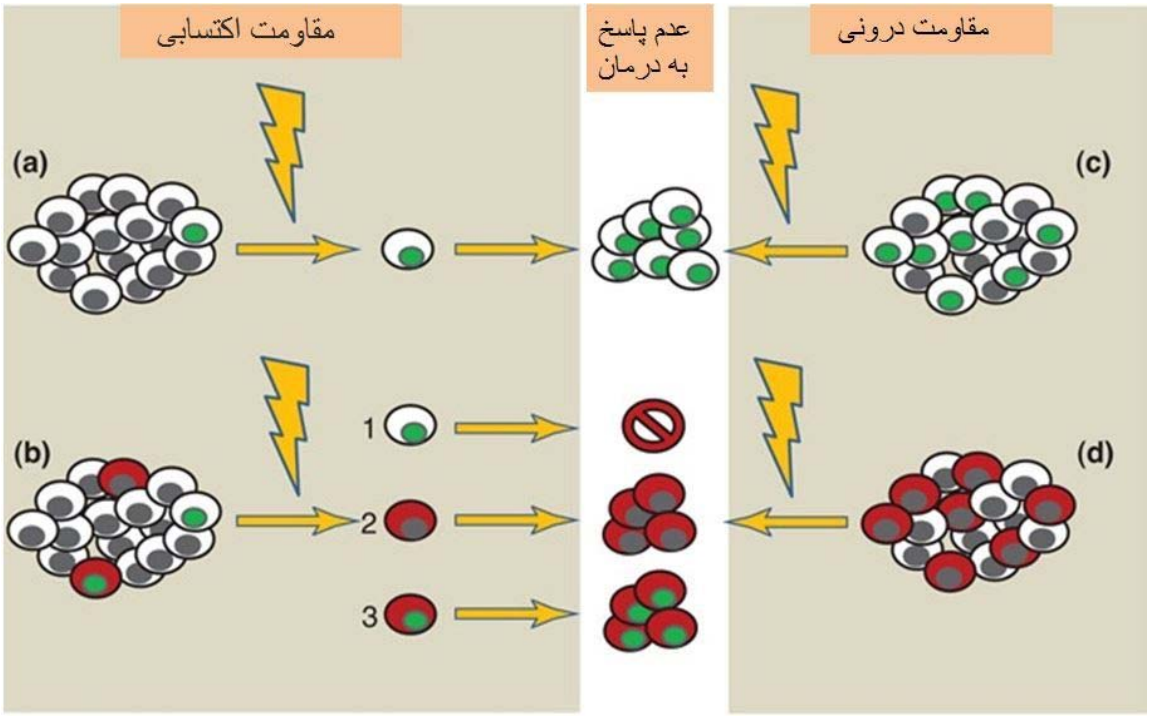
سرطان دومین علت مرگ و میردر جهان پس ازبیماری‌های قلبی و عروقی به شمار می‌آید. سرطان بیماری جدیدی نیست و از گذشته تاکنون انسان‌های بسیاری در سراسر جهان به آن مبتلا شده و جان خود را از دست داده‌اند. هم چنین و به صورت روز افزون به نرخ مبتلایان بیماران سرطانی در جهان افزوده شده است و پیش بینی شده است که در سال ۲۰۱۴ در کشور امریکا حدود ۱۶۶۵۴۰ نفر به سرطان مبتلا خواهند شد و۵۸۵۷۲۰ نفر دراثر این بیماری جان خود را از دست خواهند داد (۱). بنابراین سرطان یک مشکل بزرگ برای سلامت همه جوامع بشری است. هم چنین و متاسفانه سرطان بیماری متنوعی در سطوح بافتی، توموری و سلولی است و این گوناگونی اصلی‌ترین چالش در تشخیص اختصاصی بوده و به تبع آن درمان‌های غیر اختصاصی و نامناسب را موجب می‌شود (۲، ۳). از این رو مطالعات گسترده در زمینه تشخیص اختصاصی و درمان مناسب در سرطان امری حیاتی است.

فارماکوژنومیک به عنوان یک دانشی نو که به بررسی استعداد افراد در پاسخ‌گویی به درمان‌های متفاوت دارویی می‌پردازد، زمینه مناسبی را برای پاسخ‌گویی به پرسش‌هایی پیرامون واکنش متفاوت افراد در برابر انواع درمان‌های سرطانی فراهم نموده است. بنابراین، این دانش می‌تواند در پیش‌برد هدف‌های

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دکتر محمدرضا نوری دلویی (**email**: nooridaloii@sina.tums.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۱۰/۱۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۳/۱۱/۱۱

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱– الگوی مقاوت دارویی. با توجه به الگوی پیشرفت تصادفی سرطان ، مقاومت دارویی می‌تواند به علت جهش موجود از پیش یا جهش جدید(سلول‌های جهش‌های یافته با هسته سبز نشان داده شده) در سلول‌های هر تومور سرطانی به وجود آمده باشد. با توجه به مدل CSC، مقاومت دارویی اکتسابی که از CSCs منشا گرفته است (سلول‌های با رنگ قرمز)، مقاومت می‌تواند به علت جهش موجود از پیش یا جهش جدید پس از شیمی درمانی به وجود آمده باشد. جهش در سلول های سرطانی غیر بنیادی موثر نخواد بود، به این دلیل که این سلول‌ها توانایی تکثیر در تومور ندارند(۱۳) .

درمانی اختصاصی عیله انواع سرطان‌ها که به نحو موثری در افراد و تومورها متفاوت است، یاری‌رسان باشد (۶-۴).

از سوی دیگر، مسیرهای پیام رسانی سلول‌های بنیادی که قویا توسط سلول‌های سرطانی تقلید می‌شوند، توجه‌ها را به سوی سلول‌های سرطانی بنیادی (cancer stem cells, CSCs) که به عنوان سلول‌های ایجاد کننده تومور تلقی می‌شوند، جلب کرده‌اند (۷). تصور بر این است که این سلول‌ها می‌توانند هدف‌های بالقوه‌ای برای داروهای سرطانی باشند، که در ادامه به تفصیل مورد بحث قرار گرفته‌اند.

فارماکوژنومیک و سلول‌های بنیادی سرطانی

مطالعات فارماکوژنتیکی و سرطان

در دو دهه اخیر سرطان به عنوان یک فرایند ریزتکاملی مطرح گردیده است. این مفهوم برگرفته از الگوی تصادفی "stochastic model" در پیشرفت سرطان است. با این تصور که سلول‌های درون یک تومور احتمال اکتساب یک جهش انکوژنی (oncogenic) رابه نحو یکسان داشته و کلون‌های موفق بر دیگر سلول‌های سرطانی غلبه می‌کنند. این الگو برای توضیح بدخیمی، متاستاز و مقامت دارویی ارایه گردیده است (۸).

شیمی درمانی، به عنوان یک فشار انتخابی عمل می‌کند، بدین نحو که به گسترش کلونی‌هایی که مقاومت دارویی را اکتساب کرده‌اند، کمک می‌کند (شکل ۱). در خلال دهه ۱۹۸۰، Goldie و Coldma یک الگوی ریاضی برای رشد تومورهای پس از درمان ارایه دادند که هم چنان به عنوان استاندارد طلایی محسوب می‌شود. در این الگو، پیش بینی می‌شود که مقامت دارویی اکتسابی می‌تواند با استفاده از دوز بالای دارو و یا ترکیبی از شیمی درمانی‌ها در مراحل اولیه برطرف گردد. از سوی دیگر، در برخی از تومورها بر اثر جهش‌های جدید نوعی مقاومت درونی (intrinsic resistance) در برابر درمان‌های دارویی ایجاد می‌گردد. ظاهرا یگانه گزینه درمان برای این نوع تومورها که به شکل پیش رونده یا مهاجم توصیف می‌شوند، کشف داروهای جدید و مناسب می‌باشد (۹، ۱۰).

Archive of SID

www.SID.ir

الگوی تصادفی برای پیشگویی در پاسخ به داروهای ضد سرطانی استفاده می‌شود. مطالعات فارماکوژنومیکی برای شناسایی چندشکلی‌های سلول‌های جنسی (germinapolymorphisms)، جهش‌های اختصاصی تومورها و الگوهای بیانی متفاوت ژن‌ها که می‌تواند تاثیرگذار در بهبود درمان سرطان باشد، اختصاص داده شده است. نقطه ضعف اصلی در این است که در آنالیز ژنتیکی تومورها، همه سلول‌های موجود در تومور سرطانی از لحاظ ژنتیکی یکسان فرض می‌شوند. مطالعات فارماکوژنومیکی بر اساس الگوی تصادفی با مشکلات و موانعی مواجه می‌باشد که طی آزمون‌هایی برای احراز تائیدیه سازمان غذا و داروی امریکا (USA Food and Drug Administration,FAD) مشخص گردیده است (۴). این مطالعات تنها چندین تفاوت ژنتیکی شایع، شامل thyopurinemethyltransferase (TPMT) و uridineglucoronosyl-trasferaseisoform1A1 را در متابولیزه کردن دارو بررسی کرده‌اند که برای پیش بینی خطر افراد برای سمیت ایجاد شده به ترتیب به وسیله thyopurines و irinotecan می‌باشد. اگر چه نیاز است که آزمون‌های بالینی در آینده برای اثبات تاثیر این داروها انجام شود (۱۱).

از جمله ایرادهای احتمالی مطالعات فارماکوژنومیکی می‌تواند کم توجهی به تاثیر سلول‌های بنیادی سرطانی باشد. تومورهای سرطانی به صورت سیستم رده بندی توصیف میشوند که CSCs ظاهرا در راس این رده بندی قرار میگیرند، زیرا CSCs تنها سلول‌های آغاز کننده تومورهای سرطانی در یک بدخیمی هستند (۷). شایان ذکر است که الگوی تصادفی را نمی‌توان برای همه سرطان‌ها تعمیم داد (۱۲). از نقطه نظر CSCs نیز این الگو قابل قبول نیست، زیرا همه جهش‌های رخ داده در سلول‌های سرطانی بالغ به عمل زیست شناختی تبدیل نمی‌شود. در واقع این سلول‌ها نمی‌توانند رشد در سرطان را تحمل کنند. افزون بر این، تصور می‌شود که CSCs می‌توانند مقاومت دارویی داشته و موجب گسترش سرطان پس از درمان گردند. بنابراین، تعیین الگوی CSCs نیازمند رویکرد جدیدی است که بتواند به هر دو نوع مقاومت دارویی اکتسابی و ذاتی پاسخ‌گو بوده و بتواند موجب تغییر در الگوی کنونی فارماکوژنومیکی شود (شکل ۲) (۱۳). استفاده از یک الگوی جدید در راستای رفع این مشکل مرسوم (یافتن الگوی مناسب برای سرطان) نیاز به شناخت و ارائه ابزار جدید و تعاریفی جدید است، که ممکن است در انتها نتایج غیره منتظره و مفیدی به دست دهد (۱۴). در این مقاله مروری یافته‌های جدید همراه با محدودیت‌های آن مورد بحث قرار گرفته است و با توصیف اطلاعات در مورد مقاومت دارویی CSCs، مصرف و عملکرد آنها در پزشکی مورد تاکید قرار می‌گیرد.

مقاومت CSCs: واقعیت‌ها و افسانه‌ها

نشانگرهای CSCs

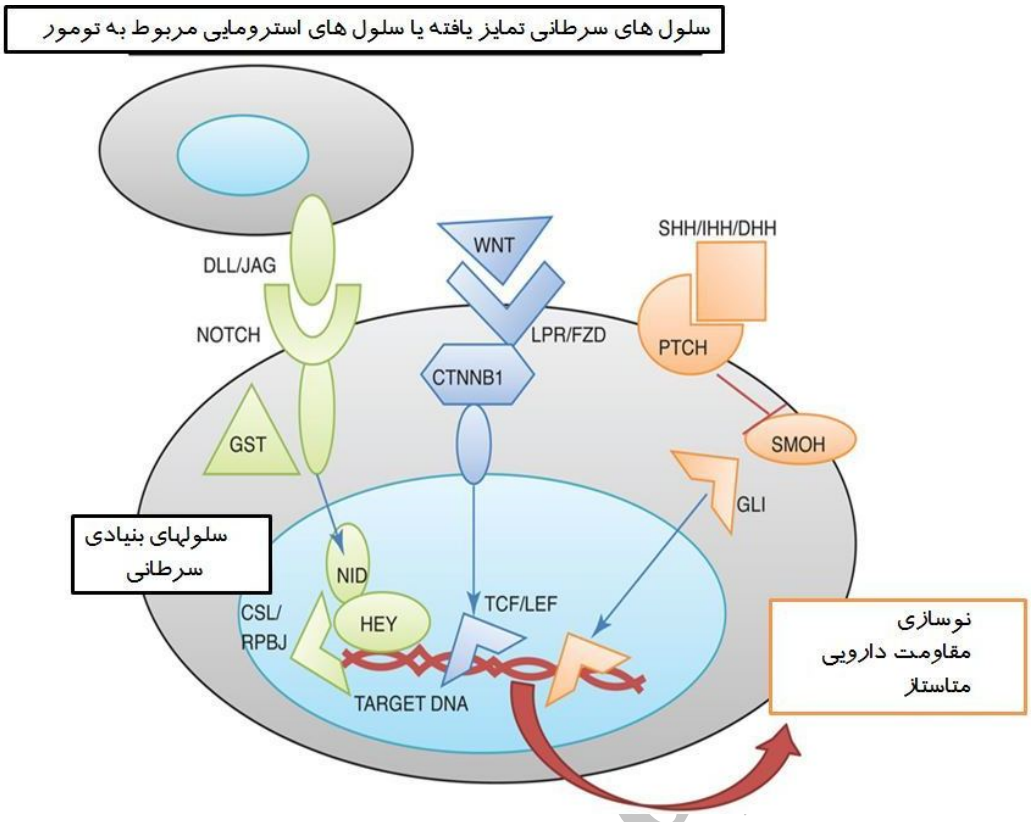
در این مقاله CSCs به عنوان یک جمعیت سلولی قابل تمییز تصور می‌شود که بر اساس نشانگرهای سطح سلولی (برای نمونه CD133) ، فعالیت آنزیمی (برای نمونه Aldehyde Dehydrogenase=ALDH) یا ناقل دارویی (برای نمونه ABCG2) شناسایی می‌شوند. CSCs تنها زیرگروه سلولی هستند که با انتقال به موش‌های با سیستم ایمنی ضعیف شده ایجاد تومورمی‌کنند و سلول‌های توموری ایجاد شده در واقع رفتار سلول‌های اولیه را تقلید می‌کنند. هم چنین CSCs برداشته شده از زنوگرافت (xenografts) موش نیز توانایی ایجاد تومور جدید را دارا هستند، که به آن خود نوسازی (self-renewal) گفته می‌شود (۱۵). افزون بر این، CSCs در تومورهای سفت و لوسمی‌ها شناسایی شده است. چندین آزمایشگاه توانایی جداسازی و تقسیم CSCsرا از بافت‌های، روده، پروستات و مغز گزارش کرده‌اند. در مجموع فراوانی CSCs حدود ۰/۱ تا ۲۰ درصد بسته به نوع سلول و نوع نشانگر وشرایط تجربی دارد (۷، ۱۶).

روش دیگر شناسایی CSCs، رنگ آمیزی Hoechst-33342 است که توسط سلول‌های به اصطلاح side population (SP)جذب نمی‌شوند. SPs پروتئین ABCG2 را که یک ناقل متصل شونده بهATP است، در سلول بیان می‌کنند که موجب انتقال Hoechst-33342 می‌شود (۱۷). بیان ناقل ABCG2 موجب انتقال چندین داروی آبگریز (شامل irinotecan، imatinib و doxorubicin) می‌شود. همراه با ABCG2 سایر خانواده ABCG نیز بیان بالایی را در SPs نشان می‌دهند که این خود موجب مقاومت دارویی بیش‌تر می‌گردد (۱۸). مهم‌تر این‌که هر توموری می‌تواند SPs با مقاومت دارویی متفاوتی داشته باشد. سازوکار دیگر مقاومت دارویی SPs می‌تواند وجود درصد بالایی از سلول‌های غیرتقسیم شونده (non-cycling cells) و افزایش بیان ژن‌های ترمیم کننده DNA باشد (۱۷).

باوجود مورد اشاره شده در بالا، مهار کننده ناقل ABC استفاده شده در مطالعات، پاسخ ضعیفی به وضعیت بالینی سرطان داده است. بیش‌تر مطالعات از غیر فعال کننده ABCB1 استفاده کرده‌اند، درصورتی که SPs بیش‌تر پروتئین ABCG2 را بیان می‌کنند (۱۳). رابطه بین CSCs و SPS توسط Patrawala و همکاران مطرح و مورد پرسش قرار

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۲- مسیر های مرتبط با CSC. مسیرهای Wnt, Hedgehog و Notch در نوسازی، بقا مقاومت دارویی CSCs نقش دارند. مسیر Notch به وسیله لیگاندهای متصل شونده به سلول(DLL, delta-like; JAG, jagged) فعال می‌شوند. این میان‌کنش موجب فعال سازی در ایجاد شکاف قلمرو داخل سلولی Notch، (Notch intracellular domain =NICD) به وسیله گاما سکرتاز (GST) می‌شود. NID به هسته انتقال یافته و موجب تحریک عامل‌های رونویسی CSL/RBPJ و مهار کننده Hey می‌شود. مولکول Wnt به گیرندهای ویژه متصل شده (LPR, lipoprotein receptor and FZD, frizzled)، و از این رو به تثبیت β-catenin (CTNNB) به وسیله مجموعه(DVL) Dishevelled کمک می‌کند. CTNBB به هسته انتقال یافته و منجر به فعال سازی CSL/RBPJ TF می‌شود. مولکول Hedgehog به گیرنده PTCH متصل شده و منجر به غیرفعال کردن Smoothened (SMOH) گردد و از این رو، اجازه تثبیت عاملرونویسی GLI و هم‌چنین انتقال‌های بعدی را به هسته می‌دهد (۴۵).

گرفته است (۱۹). تصور بر این است که تومورزایی بالای SPs غیر وابسته به ABCG2 است. افزون بر این، CSCs بخشی از سلول‌های غیر SPs را شامل می‌شوند. در برخی از تومورها CSCs و SPs کاملا از هم قابل تمییز هستند. به اختصار، اگر چه SPs در شماری از سرطان‌ها با CSCs و مقاومت دارویی همراهی دارند، درجه تطابق بین این دو جمعیت سلولی هنوز مشخص نیست. این امکان وجود دارد که، بسته به نوع سرطان و شرایط تجربی SPs دارای درصد متغیری از CSCs باشند (۲۰).

راه جایگزین دیگر برای شناسایی SPs، انتخاب کلون‌های مقاوم به داروها (drug resistant clones, DRCs) و نیز چک کردن ویژگی CSCs در این سلول‌ها است. برای نمونه، کلون مقاوم به داروی gemcitabine درسلول‌های پانکراس، نشانگرهای CD44، CD24 و آنتی ژن اختصاصی اپتلیال (epithelial-specific antigen, ESA) را عرضه کرده‌اند که سه نشانگر مهم CSCs هستند و در آنها مسیر فعال سازی سلول‌های بنیادی مشاهده شده است (۲۱). سازوکار دیگر مقاومت دارویی مربوط به CSCs تولید عامل‌های آنژیوژنیک (angiogenic) و سیتوکین‌هایی است که موجب فعال کردن سیگنال‌های جلوگیری کننده از مرگ سلولی برنامه ریزی شده وابسته به STAT3 و STAT5 می‌باشد (۲۲).

عود مکرر پس از شیمی درمانی در الگوی موشی تعمیم شده با CSCs مشاهده شده است (۲۳). Yu و همکاران افزایش تفاوت $CD44+/24^-$ را در تومور سرطان پستان پس از شیمی

Archive
www.SID.ir

درمانی نشان داده‌اند (۲۴). در صورت تعمیم این مشاهدات به دیگر سرطان‌ها می‌توان بـه الگـویی دسـت یافـت کـه شـیمی درمانی CSCs را انتخاب می‌کند.

مسیر مربوط به CSCs، نوسازی و ورای آن

ویژگی‌های CSCs به وسیله مسیرهای اطلاع رسانی مهم رشد شناخته می‌شوند که هر یک شامل دسـته‌ای ویـژه‌ای از ژن‌هـا است. مهم‌ترین مسیرهای پیام رسانی که موجب نوسازی ایـن سـلول‌هـا مـی‌شـوند شـامل مسـیرهـای Wnt، Notch و Hedgehog هستند که از لیگاندهای برون سلولی اختصاصـی، گیرنده‌های سطح سلولی، مسیرهای انتقـال پیـام درون سـلولی تشکیل شده‌اند که در نهایت موجـب فعـال شـدن عامـل‌هـای رونویسی که مسئول بیان بسیاری از ژن‌ها ی ضروری هستند، می‌گردد (شـکل ۲) (۲۵). مشـاهدات حـاکی از آن اسـت کـه مسیر ویژه هر CSCs به مقاومت دارویی آن سـلول‌هـا مربـوط است (۲۶).

مسـیر Notch نقـش مهمـی را در سرنوشـت سـلولی، تقسـیم سلولی و ادامه حیات آن در بسیاری از ارگانیسم‌هـا دارد. یـک ویژگـی مهـم ایـن مسـیر، توانـایی آنـزیم γ-secretase در چسبیدن به قلمرو درون سلولی Notch (Notch Intracellular Domain NID) است که سپس به درون هسته منتقل می‌شود و در نهایت موجب ایجاد تحریک بیان ژن یا خاموش سازی آن می‌گردد. پیام رسانی نامناسب در مسیرNotch موجـب ایجـاد اخـتلالات وسـیعی در انسـان از جملـه اخـتلالات تکـوینی و سرطان می‌شود (۲۵). شبکه Notch در سلول‌های بنیادی بالغ طبیعی در تقسیم سلولی وسرنوشت سـلولی نقـش دارد (۲۷). اگر چه نقطه مقابل این مشاهدات نیز گزارش شده اسـت، کـه درآن ژن‌های Notch به عنـوان انکـوژن و بازدارنـده تومـور در چندین سرطان مشاهده شده است و چنین فرض شـده اسـت که عملکرد متفاوتی از این ژن‌ها در درون سلول‌هـای طبیعـی وجود دارد (۲۸). گزارش‌های متعـددی از فعـال شـدن مسـیر Notch در CSC چنـدین بافـت متفـاوت طبیعـی وجـود دارد (۲۹). به وسیله فعالیت مسیر جلوگیری از مرگ سلولی، مسیر Notch در CSCs می‌تواند مقاومت دارویی ایجـاد کنـد. بـرای نمونـه، γ-secretase در مسـیر Notch موجـب تحریـک فسفریلاسیون Akt می‌شود (۳۰)، که سازوکاری برای گریـز از مرگ سلولی پس از شیمی درمانی است (شکل ۲). با توجه بـه این مشاهدات متوقف سازی آنزیم γ-secretase موجـب بهبـود درمان سرطان روده می‌گردد (۳۱)، هـم‌چنـین مهـار Notch3 موجب بهبود عملکرد داروی doxorubicin بر روی سلول‌های سرطانی هپاتوسلولار می‌شود (۵، ۳۲).

مسیر Went یک الگوی زیستی حفاظـت شـده اسـت کـه بـه شـکل علامـت‌دهـی پـاراکرینی (paracrine signaling) عمـل می‌کند و به‌طور عمده در مسیر تکاملی و تکوینی فعال اسـت. در ارگانیسم‌های بالغ، مولکول‌های Went سرنوشت سلول‌هـای بنیادی چند تـوانی (multipotent stem cells) را در تبارهـای متفاوت تنظیم می‌کنند (۳۳). تحریک نامناسب Went موجب افـزایش تومـور زایـی در بسـیاری از بـدخیمی‌هـای انسـانی می‌گردد.

نمونه معروف از این تحریک‌هـای نامناسـب، جهـش غیرفعـال کننده ژن APC است که موجب افزایش ایجـاد سـرطان روده می‌گردد (۳۴). جهش در سایر اجزای مسیر شـامل β-catenin نیز در سایر تومورها از جمله پوست، کبد، پروستات و تخمدان شناسایی شده است. نقـش جهـش در اجـزاء مسـیر Went در CSCs شبیه به نقـش آن در سـلول‌هـای بنیـادی سـوماتیکی طبیعی است. در کولون و ریه، مسیر Went یـک نیـاز اساسـی برای نگه داشتن اسـتخر سـلول‌هـای بنیـادی اسـت. بنـابراین جهش فعال کننده این مسیر موجب ایجاد تومورزایی می‌گردد (۳۵).

شایان تاکید است که در سلول‌های سرطانی مقاوم بـه شـیمی درمـانی بیـان چنـدین بازدارنـده مسـیر Went (شـامل Wnt Inhibiting Factor=WIF1 ,Secreted Frizzled Related Protein= SFRP ,Dicckopf-1 =DKK1) کـاهش مـی‌یابـد. DKK1، موجب حساسیت سلول‌های سرطانی به مرگ سـلولی ایجاد شده توسط مواد الکیله کننده می‌شـود (۳۶). افـزون بـر این، WIF1 موجب افزایش حساسیت شـمیایی بـه paclitaxel and etoposide در سلول‌هـای سـرطانی پروسـتات مـی‌گـردد (۳۷).

مسیر Hedgehog یک مسیر مهم تکوینی جنینی است کـه در بزرگسالی فعالیت آن تنها به ترمیم و زنده نگه داشتن بـافتی، تقلیل می‌یابد. فعال سازی نامناسب آن به سرطان‌های متفاوت انسان ربط داده شده است (۶، ۳۸).

چندین گروه مطالعـاتی مسـیر Hedgehog را بـر حفـظCSCs ربط داده‌اند. برای نمونه Liu و همکاران نشان داده‌اند که مسیر Hedgehog نقش مهمی در حفـظ مقـدار نسـبت سـلول‌هـای CD44+CD24- به ریز جمعیت سـلول‌هـای سـرطانی پسـتان (CD44+CD24-/low subpopulation of breast cancer) بـا تنظیم ژنBMI-1 ایفا می‌کنـد (۳۹). افـزایش فعالیـت مسـیر Hedgehog در سـلول CD133+ گرفتـه شـده از سـلول‌هـای متاستازی در مقایسه با غیر متاستازی مشاهده شده اسـت. در افراد بـا سـرطان کولـون اولیـه افـزایش حـدود ۷-۸ برابـری

Archive of SID

www.SID.ir

سلولهای +CD133 نسبت به افراد طبیعی مشاهده شده است (۴۰). CSCs مغزی نیز برای تقسیم، زنده ماندن، نوسازی و تومورزایی وابسته به مسیر Hedgehog است، به این نحو که با افزایش فعال سازی مسیر Hedgehog که در نهایت موجب فعال سازی بیش‌تر GLI1 و GLI2 گشته و ایجاد تومورزایی می‌کند (۴۳-۴۱).

فعال سازی مسیر BMI-1 توسط مسیر Hedgehog اصلی‌ترین سازوکار مقاومت دارویی در برخی از سرطان‌ها است. در کارسینوم نازو فارنژیال (nasopharyngeal carcinoma) و سرطان پروستات، غیر فعال سازی BMI-1 نقشی در نجات سلولی ندارد، اگر چه مرگ سلول ایجاد شده توسط سیستم درمانی را به نحو مناسب بهبود می‌بخشد (۴۴، ۴۵).

در نتیجه، بر اساس مشاهدات، مسیرهای سیگنالی عمده که نوسازی و تمایزایی را در سلول‌های بنیادی طبیعی نقش دارند، به شکل گسترده‌ای در زیست شناسی CSCs نیز ایفای نقش می‌کنند. هم‌چنین نقش آنها در بسیاری از سرطان‌ها مشخص گردیده و پیشنهاد شده است که ردیابی این مسیرها می‌تواند یک راهکار کلیدی و مهمی را برای حفظ و از بین بردن CSCs به شمار آید (۲۶).

مطالعات فارماکوژنومیکی CSCs

الگوی اصلی بر این ایده استوار است که CSCs آغاز کننده تومور، نسبت به سایر سلول‌های سرطانی مهاجم‌تر و مقاوم‌تر به شیمی درمانی هستند. این ایده در حالی است که مشاهدات بالینی، این نظریه را که هنوز به‌طور کامل اثبات نگردیده است، با پرسش‌های جدی مشتمل بر موارد زیر به چالش طلبیده است: ۱- آیا CSCs می‌توانند به راحتی موجب تومور زایی در موش‌های با سیستم ایمنی ضعیف شده، شوند؟ (۴۶)، ۲- آیا مقاومت دارویی CSCs به وضعیت و موقعیت کشت بافت و داروهای مصرفی بستگی دارد؟ (۴۷) تحقیقاً، پاسخ این پرسش‌های مهم، نیازمند پژوهش‌های تکمیلی است که در آن مشاهدات بالینی باید نشان دهند که‌CSCs در تومورهای بسیار بدخیم و مهاجم فعال می‌شوند و پاسخ مناسبی به شیمی درمانی نمی‌دهند.

بیان CD133 پیشنهاد کننده نجات یافتن و زنده ماندن بیمار در سرطان‌های روده و مغزی- نخاعی است (۴۸، ۴۹). در حالی که بیان CD44 در رابطه با خطر متاستاز در سرطان معده و پستان است (۵۰، ۵۱). به دلیل وجود برخی نشانگرهای مسیرهایی برای پیشگویی CSCs، مطالعات فارماکوژنومیکی آینده باید توانایی تمییز بین عامل‌های پیش آگهی (prognostic) وعامل‌های پیش‌گویانه (predictive) را داشته باشد که این مهم نیازمند مقایسه افراد درمان شده با شیوه درمانی ویژه است.

در واقع یک نشانگر پیش گویانه واقعی مربوط به نتایج درمانی حاصل از افراد درمان شده با یک شیوه درمانی ویژه انتخاب شده می‌باشد (۵۲). جدول ۱ خلاصه‌ای از مطالعات پیشنهاد کننده ژن‌ها و مسیرهای پیشگویی کننده قوی CSCs را ارایه می‌دهد. این مطالعات بر اساس میزان بیان در بافت‌های سرطانی است. شماری مطالعات نشانگرهای CSC را به عنوان پیشنهاد کننده بهبود ضعیف یا کاهش نجات بیماران درمان شده با یک شیوه ویژه شناسایی کرده‌اند (۵۳-۵۶). جالب توجه این‌که در یک مطالعه‌ای رابطه بین نجات یافتن از بیماری و بیانCD133 پس از انجام عملیات پیش از درمان (neoadjuvant therapy) در سرطان مقعدی نشان داده است. افزایش بیان CD133 با بهبود یافتگی کمتر و افزایش عود مکرر همراهی نشان داده است (۵۷).گرچه این مطالعه فاقد گروه کنترل (که درمان روی آنها انجام نگرفته باشد) می‌باشد، اما پیشنهاد کننده نقش فعال این گروه در مقاومت دارویی در درمان بیماران است. در دو مطالعه، یافته‌هایی حاکی از رابطه نزدیکی بین عود دوباره تومور و فعال سازی مسیرهای Hedgehog و یا Went پس از درمان می‌باشد (۵۸، ۵۹). در نهایت بیانCD133 در non-small cell lung cancer (NSCLC) با بیان ژن‌های مقاومت دارویی مرتبط است (۶۰). با توجه به مطالعات انجام شده، این مقاومت دارویی در سلول‌های CD133 می‌تواند به دلیل افزایش بیان Akt/PKB, Bcl-2,ABCB1ABCG2 , باشد (۶۱، ۶۲).بنابراین، این امکان منتفی نیست که نیم‌رخ‌های بیان ژنی مسیرهای مربوط به CSCs ابزار مناسبی برای مطالعات فارماکوژنومیکی آینده باشد.

یک رویه سنتی برای استفاده از آنالیز فارماکووژنومیک، ارتباط دادن واریانت‌های ژنتیکی درپاسخ به درمان‌ها است(۶۳). چندشکلی‌های سلول‌های زایشی و جهش‌های اکتسابی سوماتیکی هر دو می‌توانند در مقاومت دارویی تاثیر داشته باشند، رخدادی که آشکار کننده یک نشانگر است. چنان‌چه پیش‌تر تصریح شد، مسیرهای Wnt, Hedgehog , Notch هر سه در مقاومت دارویی ومسیرهای نو سازی CSCs نقش دارند. جالب این‌که این مسیرها توسط مولکول‌های کوچک جدیدی متوقف می‌شوند. برای نمونه مهار کننده گاماسکرتاز-γ secretaseinhibitiors (GSIs) می‌تواند در مسیر پیام رسانی Notch دچار اختلال شده و در نتیجه موجب نوسازی CSCs در چندین نوع تومورگردد (۶۴). باوجود این سمیت معدی شکمی داروی GSIs، این دارو در حال حاضر در مرحله ۲

Archive of SID
www.SID.ir

آزمایش بالینی برای سرطان ملانوم بدخیم و پانکراس استفاده می‌شود. این مطالعات موجب شده است که GSIs از جمله نخستین داروهای مورد استفاده علیه CSCs در مرحله آزمایش بالینی به شمار آید. در صورتی که اثر این دارو در آزمون‌های بالینی مثبت اعلام گردد، واریانت‌های ژنتیکی موجود در مسیر Notch می‌تواند در پیش گویی عملکرد ضد توموری GSIs یا عوارض جانبی آن کمک کننده باشند (۶۵, ۶۶).

برای تایید این اصل، پژوهشگران واریانت‌های ژنتیکی معمول در ژن‌های مسیر Notch را که می‌توانند در نوسازی CSCs و حساسیت به GSIs نقش داشته باشند، مورد مطالعه قرار دادند. جدول ۲ نشان دهنده مهم‌ترین جهش‌های ژنتیکی سلول‌های سوماتیکی و چندشکلی‌های گزارش شده در سرطان می‌باشد. ژن Notch1 تقریبا در ۶۰ درصد لوسمی لنفوئید سلول‌های T-cell acute lymphoid leukemias (T-ALL) جهش دارد. بیش‌تر تغییرات به شکل جهش‌های بدمعنی یا خذف‌ها و درج‌های کوتاه است که نتایج آن به صورت فعال شدن بدون نیاز به لیگاند Notch یا افزایش فعالیت در اثر لیگاند ظهور می‌یابد. تغییرات ژنتیکی غیر معمول، بیش‌تر قلمروهای برون سلولی را متاثر کرده و یا موجب افزایش فعالیت γ-secretase می‌شود. با توجه پیشینه ژنتیکی انتظار زیادی بر موثر بودن GSIs در درمان T_ALLوجود دارد. متاسفانه، مرحله اولیه آزمون‌های بالینی بر روی GSIs در درمان T_ALL نتایج ناامید کننده‌ای مشتمل بر پاسخ دهی بسیار ضعیف و مسمومیت‌زای معدی شکمی را به همراه داشته است. این نتایج نشان دهنده اهمیت مطالعات فارماکوژنومیکی در مرحله اولیه ارائه داروهای علیه CSCs می‌باشد (۶۷).

با توجه به ماهیت اختصاصی این داروها، ضروری است که با شناسایی نشانگرهای مولکولی ویژه بتوان بیمارها را به شکل اختصاصی انتخاب کرده و بهبود بخشید. در این مورد می‌توان بر این تصور بود که تنها شماری از جهش‌ها (غیر وابسته لیگاند) به GSIs حساس می‌باشند. دیگر جهش‌ها (واجد حساسیت‌زایی بالا به لیگاند) شاید بهترین گزینه برای رویکردهای تکمیلی (برای نمونه، آنتی بادی اختصاصی Notch-1) باشند. فعال شدن مسیر پیام رسانی

جدول ۱- مطالعات بالینی نشان دهنده ارتباط بین مسیر مربوط به CSC و پاسخ به درمان

ژن	گوناگونی	عملکرد	نرخ	Ref.
NOTCH1	جهش	فعال سازی(T-ALL)	٪۶۰	(۶۷)
NOTCH1	جهش	پاسخ بهGSIو پیش آگهی (NSCLC)	٪۱۲	(۶۸)
NOTCH2	جهش	نامعلوم (سرطان پستان)	٪۲/۱	(۷۰)
NOTCH3	جهش	نامعلوم (سرطان کولورکتال)	٪۲	(۷۰)
NOTCH3	Amplification(تشدید)	پاسخ به GSI (سرطان تخمدان)	٪۱۹/۵	(۶۹)
NOTCH2	SNP	افزایش خطر ابتلا به سرطان(سرطان پستان)	٪۱۶/۵	(۷۱)
HEY1	SNP	پاسخ به فعال کننده P^{53}	٪۱	(۷۲)

جدول ۲- تغییرات ژنتیکی شایع در ژن مسیر notch

ژن	گوناگونی	عملکرد	نرخ	Ref.
NOTCH1	جهش	فعال سازی (T-ALL)	٪۶۰	(۶۷)
NOTCH1	جهش	پاسخ به GSI و پیش آگهی (NSCLC)	٪۱۲	(۶۸)
NOTCH2	جهش	نامعلوم (سرطان پستان)	٪۲/۱	(۷۰)
NOTCH3	جهش	نامعلوم(سرطان کولورکتال)	٪۲	(۷۰)
NOTCH3	Amplification (تشدید)	پاسخ بهGSI (سرطان تخمدان)	٪۱۹/۵	(۶۹)
NOTCH2	SNP	افزایشخطر ابتلا به سرطان (سرطان پستان)	٪۱۶/۵	(۷۱)
HEY1	SNP	پاسخ به فعال کننده P^{53}	٪۱	(۷۲)

-هر دوچندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (SNP) و تغییرات سوماتیکی(تشدید ژنی و جهش ژنی) بر رفتار سلول سرطانی تاثیر گذار است. نرخ، به میزان جهش در نمونه‌های سرطان، و یا فراوانی آلل جزیی در سفیدپوستان (SNP) اشاره دارد. T-ALL: T-cell acute lymphoid leukemia ;NSCLC non-small cell lung cancer; GSI, γ-secretase inhibitor

Archive of SID

www.SID.ir

Notch نیز تقریبا در ۳۰ درصد NSCLC مشاهده شده است که به خاموش سازی مهار کننده مسیر یا جهش در Notch-1 که موجب فعالیت غیر وابسته به لیگاند می‌شود، نسبت داده می‌شود (۶۸). شایان ذکراست که سلول‌های گرفته شده از سرطان‌های با افزایش پیام رسانی در مسیر Notch حساسیت بالایی به GSIs نشان می‌دهد. شاید به دلیل نقش اساسی γ-secretase در تکامل رسپتورهای مسیر Notch-1 باشد، که GSIs موجب بلوکه شدن این مسیر می‌شود. افزون بر این، با فعال شدن مسیر Notch میزان نجات یافتن و بهبودی ضعیفی پیش بینی می‌شود. به طور مشابه، افزایش ژن Notch-3 در سرطان تخمدان با درجه بالا نیز حساسیت بالایی به GSIs نشان می‌دهد (۶۹).

در برخی تومورهای سفت مانند پستان و روده، جهش در ژن Notch یا γ-secretase رایج نیست، بنابراین کارکرد و تاثیر GSIs را زیر سوال می‌برد (۷۰, ۷۱). در این گونه موارد ممکن است فعال سازی مسیر Notch به وسیله مولکول‌های پایین دست مسیر انجام شود. برای نمونه، فعالیت عامل هسته‌ای وابسته Notch به وسیله یک SNP غیر هم نام (Hey1 Leu94Met) متاثر می‌گردد (۷۲). Hey (hairy/enhancer-of-split related with YRPW) یک مهار کننده رونویسی است که توسط NID فعال می‌شود که به شکل کلی به عنوان تنظیم کننده مثبت ژن بازدارنده تومور p53 عمل می‌کند. جایگزینی لوسین-متیونین می‌تواند فعال شدن p53 را دچار اخلال کند و سرانجام تقسیم سلولی نامناسب را تهسیل کند. هم‌چنین آل‌های متفاوت به فعالیت داروهای پرو آپاپتوتیک با هدف p53 حساس نیستند.

در نتیجه، آنالیز کامل پیرامون تفاوت‌های ژنتیکی سلول‌های سوماتیکی و سلول‌های زایشی در مسیرهای وابسته به CSCs می‌تواند به درمان‌های مختص فرد (هدفمند) کمک کند. اگر چه به دلیل این‌که CSCs تنها درصد کمی از سلول‌های متعلق به بیش‌تر تومورها را تشکیل می‌دهند، آنالیز ژنتیکی این سلول‌ها باید به وسیله سیستم‌های تجربی کاملا جدیدی بهبود یابند که در ادامه، مورد بحث قرار گرفته است.

دیدگاهی نو برای CSCs

برای انجام یک مطالعه جدید فارماکوژنتیکی به رویکردهای موثر برای پیگیری تغییرات CSCs در پاسخ به داروهای ضد سرطانی نیاز است. هم‌چنین راهکارهایی برای شناسایی و افتراق CSCs از بیماران لازم می‌باشد. برای نمونه فنون تصویر برداری می‌توانند برای شناسایی CSCs مورد استفاده قرار گیرند (۷۳). برای شناسایی این سلول‌ها آنالیزهای چند پارامتری (Multiparametric analysis) و حساسیت بالا ضروری است. به دلیل این‌که CSCs اغلب به وسیله چندین نشانگر شناخته می‌شوند و نیز میزان آن‌ها به اندازه ۱ در ۱۰۰۰ می‌باشد. تصویر برداری چشمی با کیفیت بالا (High resolution optical imaging) برای نئوپلاسم سطحی (برای نمونه سرطان پستان) با توجه بر محدودیت‌های نفوذ پزیری، یکی از بهترین گزینه‌ها به شمار می‌آید. ام ار ای Magnetic Resonance Imaging (MRI)و Positron Emission Tomography (PET) برای تصویربرداری از نئوپلاسم درونی مناسب می‌باشد، هر دو روش به پروب‌های ردیابی رادیویی یا نشانگرهای ویژه نیاز دارند که به صورت غیر یکسان CSCs را ردیابی کنند. ابزارهای شبیه بر روی الگوهای حیوانی استفاده شده است (۷۴). بنابراین مطالعات آینده باید خاصیت فارماکوکنتیکی و فارماکودینامیکی پروب‌های CSCs (برای نمونه radiolabeled anti-CD133antibodies را بررسی نماید.

رویکرد دیگر، جدا کردن CSCs از خون محیطی است، روشی که می‌تواند به سرعت در بالین مورد استفاده قرار گیرد (۷۵). سلول‌های توموری در حال گردش Circulating tumor cells (CTCs) به میزان یک در هر میلیون سلول در خون بیمار متاستازی مشاهده می‌شود. در سلول‌های سرطانی پخش شده Disseminated tumor cells (DTCs) نیز می‌تواند به عنوان سلول‌های میکرومتاستاز در مغز استخوان شناسایی گردند. به دلیل این‌که CTC/DTCs و CSCs ویژگی‌های مشترکی را از خود بروز می‌دهند، پژوهش‌هایی درباره وجود سلول‌های آغاز کننده تومور در خون و مغز استخوان افراد سرطانی را انجام گرفته است. Balic و همکاران مطالعه‌ای را بر روی نمونه بیوپسی مغز استخوان بیمار با سرطان پستان که برای cytokeratin (CK), CD44 and CD24 علامت گذاری ایمنی شده بودند انجام دادند (۷۶). سلول‌های CD44+/24-CSCs، با میزان ۷۲ درصد در همه‌ی نمونه‌های بیوپسی مشاهده شده است که بسیار بیش‌تر از تومورهای اولیه‌اند. نتایج مشابه نیز به وسیله CTCs از بیماران با سرطان پستان گزارش شده است (۷۷). این اطلاعات به نظریه خاصیت فرار CSCs از تومور اولیه و ایجاد میکرومتاستازها در بافت‌های دورتر قوت می‌بخشد.

هم‌چنین اطلاعات به دست آمده از بیماران سرطان پستان حاکی ازجالب بودن CSCs به عنوان یک هدف در مطالعات فارماکوژنومیکی است. افزایش میزان CTC پیش و پس از شیمی درمانی پیشنهاد کننده کوتاه بودن امید به به زندگی

Archive of SID
www.SID.ir

بدون درگیری به بیماری (disease-free survival) است (۷۸). DTCs از هر دو روش شیمی‌درمانی و هورمون‌درمانی می‌تواند گریخته و زنده باقی بمانند و چندین سال پس از جراحی تومور در مغز استخوان مشاهده شوند و بدین ترتیب امکان متاستاز دیر هنگام را افزایش دهند (۷۹). در صورت درستی نظریه CSCs، میزان CSCs درون CTC و DTC باید به عنوان یک معیار مناسب و دقیق برای پیش بینی و درمان و نجات پس از شیمی درمانی لحاظ گردد. در نتیجه، تصویر برداری با قدرت بالا و جداسازی CTC/DTC می‌توانند برای شناسایی CSCs در مطالعات فارماکوژنومیکی استفاده شوند. نقطه ضعف اصلی در این موضوع میزان بسیار کم CSCs است. این امر موجب ایجاد یک نتیجه منفی کاذب در صورت عدم حساسیت کافی آزمون‌ها یا ایجاد یک نتیجه مثبت کاذب در صورت وجود علامت‌رسانی افزایش یافته خواهد شد. هم‌چنین داده‌ها نیز باید قابل تکرار و دست یافتنی بوده و آنالیز بر اساس زمان (time-course analysis) بر روی CSCs پیش و پس از شیمی درمانی، نیز قابل انجام باشد.

طراحی مطالعه‌های فارماکوژنومیکی نوین

تاثیر عملکرد مرسوم داروهای ضد سرطانی بر این اساس که همه سلول‌های سرطانی به یک میزان خطرناک هستند، اندازه‌گیری می‌شوند. فعالیت ضد سرطانی به وسیله معیارهای ارزیابی پاسخ به تومورهای سفت Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) اندازه گیری می‌شوند (۸۰). معیارهایRECIST تخمین حجم تومور پس از درمان را به وسیله MRI و سی تی اسکن ارزیابی می‌کند. اگر چه اندازه گیری‌های بر اساس حجم هنگامی که فعالیت زیستی یک دارو اندازه گیری می‌شود می‌توانند گمراه کننده باشد (۸۱). از نقطه نظر الگوی CSCs نیز نامناسب می‌باشد. دلیل این امر آن است که CSCs تنها می‌تواند ۰/۱ درصد از کل حجم را تشکیل دهند (۸۲). داروهای ضدسرطانی که تنها علیه سلول‌های غیر CSC تولید می‌شوند، فقط می‌تواند موجب کوچک شدن اندازه تومور شوند که سودمندی اندک یا هیچ را برای بهبود بیماری خواهد داشت. به دلیل این‌که این سلول‌های توانایی تقسیم نداشته یا تنها توانایی بسیار محدودی دارند و دلیل اصلی بزرک شدگی اندازه تومور نیستند. بر اساس شواهد و اطلاعات پیش‌بالینی (pre-clinical) و فارماکوکنتیکی به نظر می‌رسد شیمی درمانی‌هایی که هر دوی CSCs و non CSCs را مورد هدف قرار می‌دهند، از ویژگی به مراتب بالاتری برای جمعیت اولیه برخوردار هستند که ظاهرا موجب کاهش تعداد CSCs که می‌تواند پاسخگوی دلیل افزایش نجات و بهبودی در بیماران باشد، می‌گردد. اگر چه که میزان CSCs پس از شیمی درمانی متاسفانه می‌تواند حتی افزایش یابد، بنابراین احتمال عود دوباره دیرهنگام و متاستاز را افزایش می‌دهد (۲۴, ۸۳).

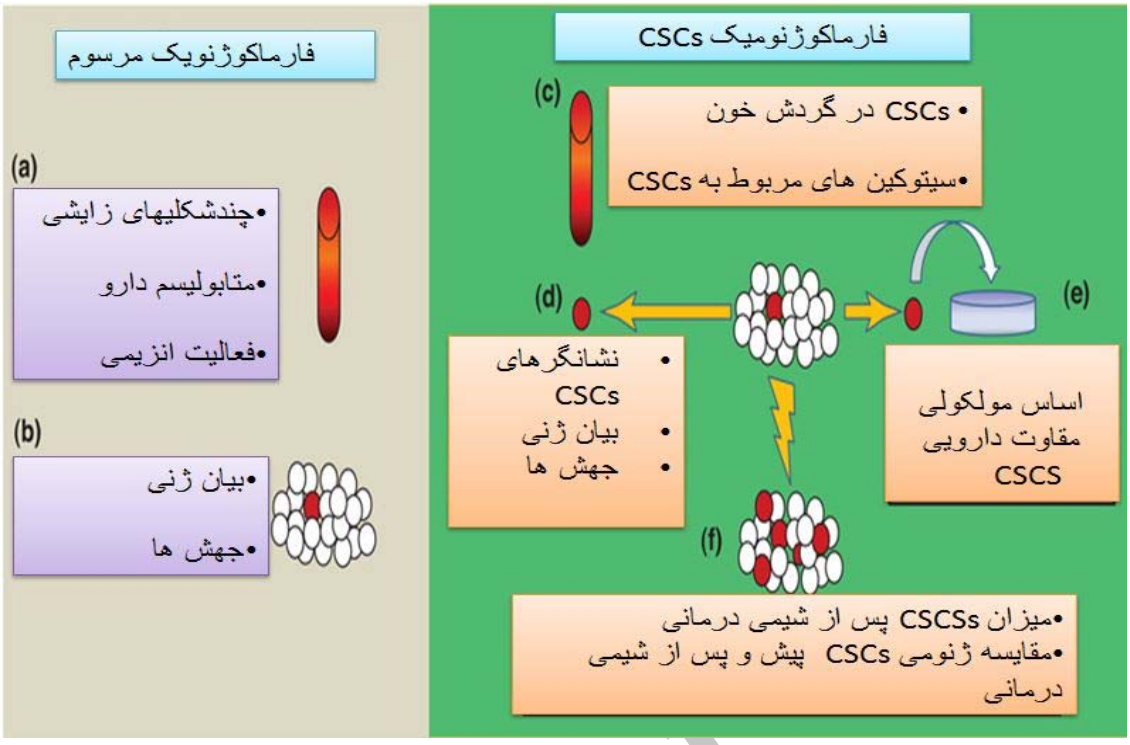
برای ایجاد یک مطالعه فارماکوژنومیک بر اساس CSCs نیاز به فن‌آوری‌های نوین است که بتوانند میزان CSCs را in vivo نشان دهند. چنان چه پیش‌تر بحث شد سی تی اسکن با دقت بالا و MRI ابزارهای نیرومندی هستند. مهم‌ترین مشکل پیش روی، ایجاد پروب‌های ویژه CSCs است. به این دلیل که هنوز نشانگرهای بسیار اختصاصی برای این سلول‌ها گزارش نشده است و از سویی دیگر قابل توجه است که بدانیم هنوز برای شماری از تومورهای سفت، فنوتیپ مربوط CSCs به طور دقیق گزارش نشده است. افزون بر این‌ها پروب‌ها نباید از سمیت برخوردار باشند و بتواند به شکل گسترده به سلول‌ها در درون توده توموری منتشر گردند.

به دلیل این‌که هیچ یک از این روش‌ها هنوز در سطح بالینی مورد آزمایش قرار نگرفته‌اند، نشانگرهای جانشین برای فعالیت CSCs در آینده نزدیک مورد نیاز است. یک نشانگر جانشین برای فعالیت CSCs می‌تواند عامل‌های محلول شامل سیتوکین‌های متفاوت باشد. مطالعات نشان داده است که مبتلایان به سرطان‌های متفاوت ، افزایش در میزان سیتوکین‌های متفاوتی به‌ویژه اینترلوکین۶ (IL6) را نشان می‌دهند. سیتوکین‌های تولید شده به وسیله استرومای مربوط به تومور و سلول‌های سرطانی مسؤول برخی از علایم مربوط سرطان مانند فرسودگی طولانی مدت و اختلال شناختی می‌باشد(۸۴). میزان زیاد Il۶ یک عامل غیر وابسته نشان دهنده بقای کوتاه مدت در برخی از تومورها از جمله سرطان پستان است (۸۵, ۸۶). Mammospheres جدا شده از بیماران سرطان پستان میزان زیادی IL6 تولید می‌کنند. با متوقف کردن این لوپ اتوکرینی، مسیر رشد CSCs و تهاجمی بودن مختل می‌شود(۸۷). به دلیل ارتباط بین میزان IL6 و پیش‌آگهی سرطان پستان و نیز زیست‌شناسی CSCs، به نظر می‌رسد میزان IL6 می‌تواند به عنوان یک نشانگر در فعالیت anti_CSCs لحاظ گردد.

چنان‌چه در شکل ۳ نشان داده شده است، نظریه CSC تاثیر گسترده‌تری در مطالعات فارماکوژنومیکی خواهد داشت. به صورت معمول مطالعات مرسوم فارماکوژنومیکی با جهش‌ها و تغییرات سلول‌های سوماتیکی و جنینی سر و کار دارد (۶۳, ۸۸). در مرحله نخست چندشکلی‌های موجود در سلول‌های طبیعی و سرطانی معمولا از طریق نمونه‌هایی با دسترسی

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- طراحی مطالعات نوآورانه فارماکوژنومیکی. مطالعات فارماکوژنومیکی مرسوم به آنالیز بر روی نمونه خون (a) و یا بر روی نمونه بافت سرطانی (b) می پردازد. در مورد اول، چند شکلی‌های زایشی و متابولیسم دارو مطالعه شده است که سمیت مربوط به شیمی درمانی پیش بینی شود. در مورد دوم، آنالیزژنومیک بر روی جمعیت سلولی مختلط انجام می‌شود، که معمولا شامل درصد کمی از CSCs (سلول به رنگ قرمز) می‌باشند. فارماکوژنومیک CSCs باید شامل توانایی شناسایی CSCs در گردش و اندازه‌گیری سیتوکین مربوط به CSCs در گردش خون باشد(c). هم‌چنین CSCs جداشده از تومورهای اولیه (d) برای آنالیزویژه‌ی ژنومی وپروتومیک مناسب است. هم‌چنین می‌توان CSCsرا به صورت in vitro به منظورآزمون حساسیت به دارو گسترش داد(e). در نهایت، اگر CSCs بسیار مقاوم باشند، شیمی درمانی موجب افزایش درصد آنها در تومور خواهد شد. بنابراین آنالیز میزان CSCsپس از neoadjuvant chemotherapy و هم‌چنین مقایسه ژنومی CSCsپیش و پس از شیمی درمانی می‌تواند پاسخ بیماران به درمان را پیش‌بینی کند(۱۳).

آسان که معمولا خون می‌باشد بررسی می‌گردد، ثابت گردیده این راهکار در کشف واریانت‌های ژنتیکی موثر در متابولیسم دارو کار آمد است. در مرحله دوم، جهش‌های ویژه سلول‌های سرطانی و نیز الگوی بیانی در سلول‌های سرطانی به وسیله نمونه بیوپسی گرفته شده از تومور بررسی می‌گردد. برای نمونه جهشEGFR به حساسیتnon-smallcell lung cancer در مقابل gefitinib ربط داده شده است (۶۳).

چنان‌چه CSCs به تنهایی پیشرفت سرطان و مقاومت دارویی را موجب می‌شوند، انجام نمونه برداری به صورت دقیق ضروری است. نمونه‌های ریز برش لیزری microdissection Laser(LMD) از بافت برای مطالعات فارماکوژنومیکی که نیم‌رخ ژنتیکی در آن بررسی می‌شود ارایه شده است (۸۹)، با یک تعدیل مناسب می‌توان به وسیله LMD، CSCs را به صورت سطحی از تومور جدا کرد. آنتی‌بادی‌هایی را می‌توان علیه نشانگرهای CSCs در نمونه‌های ریز برش استفاده کرد که توانایی ایجاد نیم‌رخ ژنتیکی ویژه CSCs را ارایه دهند. اگر چه به نظر می‌رسد که مشکل اصلی پراکندگی بسیار کم CSCs است. با این وجود، فن‌آوری‌های جدید می‌توانند به شکل مناسبی تنها یک سلول را جدا کنند (۹۰).

روش جایگزین دیگر برای مطالعه مقاومت دارویی CSCs، تکثیر آزمایشگاهی است. به این دلیل که LMD نیاز به تثبیت کردن بافت دارد، برای این منظور مناسب نیست. CSCs معمولا شکل کروی را در محیط کشت سلول‌های بنیادی به خود می‌گیرند و چندین نشانگرCSC را عرضه و بیان می‌کنند. با استفاده ازاین فنCSCs از تومورهای پستان ، مغز و پروستات جدا سازی و تکثیر شده‌اند (۹۳-۹۱). محتویات محیط کشت سلول‌های بنیادی از بافتی به بافت دیگر متفاوت می‌باشد. با این تفاوت‌های ویژه رشد سلول‌های طبیعی و

Archive of SID

www.SID.ir

CSCs امکان‌پذیر است (۹۴). این‌که یک نیم‌رخ بیانی بسیار متفاوتی از یک توده کروی در کشت مشاهده شود امری نادر نیست (۹۳, ۹۵). بنابراین عرضه CSCs در محیط کشت می‌تواند نیم‌رخ بیانی ژن‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. هم‌چنین بقای علامت بیان ژنی ویژه CSCs، محدود به چند پاساژ است. باوجود همه این کاستی‌ها، کشت CSCs می‌تواند در پیش گویی بیماران به ترکیب متفاوت داروها مناسب باشد. برای نمونه متوقف کننده مسیر Notch بر روی تومور مغزی نخاعی مورد آزمایش قرار گرفته و موجب شده است که اثر بخشی آن به صورت in vivo نیز تایید شود (۶۴). این رویکرد می‌تواند برای غربالگری داروهای موثر بر CSCs مورد استفاده قرار گیرد.

جمع بندی

با توجه به چالش‌های موجود در تعریف مناسب و قابل قبول برای الگو ودیدگاه به وجود آمدن وگسترش سرطان، مشکلاتی عمده‌ای را در ارتباط با مطالعه و درمان سرطان‌ها به وجود آورده است. بنابراین در مرحله اول یک تعریف جامع و مناسب در این زمینه ضروری است. در راستای این مهم، نظریه CSC ظاهرا تعریف مناسبی از نحوه گسترش سرطان ارایه می‌دهد و هم چنین می‌تواند تا حدودی پاسخ‌گوی علل چالش‌های درمانی از جمله مقاوت دارویی باشد. مسیرهای مربوط به سلول‌های بنیادی که توسط CSCها به نحو گسترده تقلید می‌شوند زمینه گسترده‌ای را برای دانش فارماکوژنومیک در ارتباط با مطالعات سرطانی به جود آورده است. با این دانش راهبردی می‌توان به بررسی گوناگونی‌های ژنتیکی در هر دوی سلول‌های سوماتیکی و زایشی و ارتباط آن با پاسخ‌های درمانی متفاوت افراد پرداخت. از جمله چالش‌های پیش روی این مسیر، شناسایی CSCها به دلیل وجود مقادیر بسیار کم آنها در بین سلول‌های توموری است. طراحی راهکارهای مناسب و ابزارهایی با قدرت بالا در شناخت این سلول‌ها امری ضروری است. از سویی دیگر برای دست یابی به این هدف های یک همکاری بسیار گسترده و نظامندی بین زیست‌شناسان و به ویژه در قلمرو CSC و پزشکان متخصص سرطان یک نیاز اساسی است، تا در نهایت یک تحول عظیم در درمان سرطان به شکل اختصاصی و انفرادی به وجود آید.

REFERENCES

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. CA: a cancer journal for clinicians 2013;63:11-30.
2. Meacham CE, Morrison SJ. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. Nature 2013;501:328-37.
3. Fisher R, Pusztai L, SwantonC. Cancer heterogeneity: implications for targeted therapeutics. Br J Cancer 2013;108:479-85.
4. Maitland ML, Vasisht K, Ratain MJ. TPMT, UGT1A1 and DPYD: genotyping to ensure safer cancer therapy? Trends Pharmacol Sci 2006;27:432-37.
5. Noori-Daloii MR, ed. Medical molecular genetics in the third millennium. Tehran: Samer Publishing; 2012.
6. Noori-Daloii MR, ed. Emery's elements of medical genetics. Tehran: Jame-e-Negar and Salemi Publishing; 2013. [In Persian]
7. Dick JE. Looking ahead in cancer stem cell research. Nat Biotechnol 2009;27:44-46.
8. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000;100:57-70.
9. Goldie JH. Drug resistance in cancer: a perspective. Cancer Metastasis Rev 2001;20:63-68.
10. Lehembre F, Regenass U. Metastatic disease: a drug discovery perspective. Semin Cancer Biol 2012;22:261-71.
11. Schwab M, Zanger UM, Marx C, Schaeffeler E, Klein K, Dippon J, et al. Role of genetic and nongenetic factors for fluorouracil treatment-related severe toxicity: a prospective clinical trial by the German 5-FU Toxicity Study Group. J Clin Oncol 2008;26:2131-38.
12. Prestegarden L, Svendsen A, Wang J, Sleire L, Skaftnesmo KO, Bjerkvig R, et al. Glioma cell populations grouped by different cell type markers drive brain tumor growth. Cancer Res 2010;70:4274-79.
13. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. Nature Rev Cancer 2005;5:275-84.
14. Kuhn TS. Historical structure of scientific discovery. Science 1962;136:760-64.
15. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates froma primitive hematopoietic cell. Nat Med 1997;3:730-37.
16. Li M. New treatment strategies targeting cancer stem cells. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao 2014;36:546-50. [In Chinese]

Archive of SID

www.SID.ir

17. Wu C, Alman BA. Side populationcells in human cancers. Cancer let 2008;268:1-9.

18. Ho MM, Ng AV, Lam S, Hung JY. Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. Cancer Res 2007;67:4827-33.

19. Patrawala L, Calhoun T ,Schneider-Broussard R, Zhou J, Claypool K, Tang DG. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas ABCG2+ and ABCG2- cancer cells are similarly tumorigenic. Cancer Res 2005;65:6207-19.

20. Broadley KW, Hunn MK, Farrand KJ, Price KM, Grasso C, Miller RJ, et al. Side population is not necessary or sufficient for a cancer stem cell phenotype in glioblastoma multiforme. Stem cells 2011;29:452-61.

21. Shah AN, Summy JM, Zhang J, Park SI, Parikh NU, Gallick GE. Development and characterization of gemcitabine-resistant pancreatic tumor cells. Ann Surg Oncol 2007;14:3629-37.

22. Desrivieres S, Kunz C, Barash I, Vafaizadeh V, Borghouts C, Groner B. The biological functions of the versatile transcription factors STAT3 and STAT5 and new strategies for their targeted inhibition. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2006;11:75-87.

23. Dylla SJ, Beviglia L, Park IK, Chartier C, Raval J, Ngan L, et al. Colorectal cancer stem cells are enriched in xenogeneic tumors following chemotherapy. PloS One 2008;3:e2428.

24. Yu F, Yao H, Zhu P, Zhang X, Pan Q, Gong C, et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. Cell 2007;131:1109-23.

25. Crea F, Mathews LA, Farrar WL, Hurt EM. Targeting prostate cancer stem cells. Anticancer Agents Med Chem 2009;9:1105-13.

26. Chen K, Huang YH, Chen JL. Understanding and targeting cancer stem cells: therapeutic implications and challenges. Acta Pharmacol Sin 2013;34:732-40.

27. Dontu G, Jackson KW, McNicholas E, Kawamura MJ, Abdallah WM, Wicha MS. Role of Notch signaling in cell-fate determination of human mammary stem/progenitor cells. Breast Cancer Res 2004;6:R605-15.

28. Radtke F, Raj K. The role of Notch in tumorigenesis: oncogene or tumour suppressor? Nat Rev Cancer 2003;3:756-67.

29. Bolos V, Blanco M, Medina V, Aparicio G, Diaz-Prado S, Grande E. Notch signalling in cancer stem cells. Clin Transl Oncol 2009;11:11-19.

30. McKenzie G, Ward G, Stallwood Y, Briend E, Papadia S, Lennard A, et al. Cellular Notch responsiveness is defined by phosphoinositide 3-kinase-dependent signals. BMC Cell Biol 2006;7:10.

31. Meng RD, Shelton CC, Li YM, Qin LX, Notterman D, Paty PB, et al. gamma-Secretase inhibitors abrogate oxaliplatin-induced activation of the Notch-1 signalingpathway in colon cancer cells resulting in enhanced chemosensitivity. Cancer Res 2009;69:573-82.

32. Giovannini C, Gramantieri L, Chieco P, Minguzzi M, Lago F, Pianetti S, et al. Selective ablation of Notch3 in HCC enhances doxorubicin's death promoting effect by a p53 dependent mechanism. J Hepatol 2009;50:969-79.

33. Nusse R. Wnt signaling and stem cell control. Cell Res 2008;18:523-27.

34. Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, et al. Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. Science 1997;275:1787-90.

35. Uematsu K, He B, You L, Xu Z, McCormick F, Jablons DM. Activation of the Wnt pathway in non small cell lung cancer :evidence of dishevelled overexpression. Oncogene 2003;22:7218-21.

36. Shou J, Ali-Osman F, Multani AS, Pathak S, Fedi P, Srivenugopal KS. Human Dkk-1, a gene encoding a Wnt antagonist, responds to DNA damage and its overexpression sensitizes brain tumor cells to apoptosis following alkylation damage of DNA. Oncogene 2002;21:878-89.

37. Ohigashi T, Mizuno R, Nakashima J, Marumo K, Murai M. Inhibition of Wnt signaling downregulates Akt activity and induces chemosensitivity in PTEN-mutated prostate cancer cells. Prostate 2005;62:61-68.

38. Jiang J, Hui CC. Hedgehog signaling in development and cancer. Develop Cell 2008;15:801-12.

39. Liu S, Dontu G, Mantle ID, Patel S, Ahn NS, Jackson KW, et al. Hedgehog signaling and Bmi-1 regulateself-renewal of normal and malignant human mammary stem cells. Cancer Res 2006;66:6063-71.

40. Varnat F, Duquet A, Malerba M, Zbinden M, Mas C, Gervaz P, et al. Human colon cancer epithelial cells harbour active HEDGEHOG-GLI signalling that isessential for tumour growth, recurrence, metastasis and stem cell survival and expansion. EMBO Mol Med 2009;1:338-51.

Archive of SID

www.SID.ir

41. Clement V, Sanchez P, de Tribolet N, Radovanovic I, Ruiz i Altaba A. HEDGEHOG-GLI1 signaling regulates human gliomagrowth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity. Curr Biol 2007;17:165-72.

42. Ehtesham M, Sarangi A, Valadez JG, Chanthaphaychith S, Becher MW, Abel TW, et al. Ligand-dependent activation of the hedgehog pathway in glioma progenitor cells. Oncogene 2007;26:5752-61.

43. Santini R, Vinci MC, Pandolfi S, Penachioni JY, Montagnani V, Olivito B, et al. Hedgehog-GLI signaling drives self-renewal and tumorigenicity of human melanoma-initiating cells. Stem cells 2012;30:1808-18.

44. Alajez NM, Shi W, Hui AB, Yue S, Ng R, Lo KW, et al. Targeted depletion of BMI1 sensitizes tumor cells to P53-mediated apoptosis in response to radiation therapy. Cell Death Differ 2009;16:1469-79.

45. Crea F, DuhagonSerrat MA, Hurt EM, Thomas SB, Danesi R, Farrar WL. BMI1 silencing enhances docetaxel activity and impairs antioxidant response in prostate cancer. Int J Cancer 2011;128:1946-54.

46. Kennedy JA, Barabe F, Poeppl AG, Wang JC, Dick JE. Comment on "Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells". Science 2007;318:1722.

47. Beier D, Rohrl S, Pillai DR, Schwarz S, Kunz-Schughart LA, Leukel P, et al. Temozolomide preferentially depletes cancer stem cells in glioblastoma. Cancer Res 2008;68:5706-15.

48. Artells R, Moreno I, Diaz T, Martinez F, Gel B, Navarro A, et al. Tumour CD133 mRNA expression and clinical outcome in surgically resected colorectal cancer patients. Eur J Cancer 2010;46:642-49.

49. Pallini R, Ricci-Vitiani L, Banna GL, Signore M, Lombardi D, Todaro M, et al. Cancer stem cell analysis and clinical outcome in patients with glioblastoma multiforme. Clin Cancer Res 2008;14:8205-12.

50. Okayama H, Kumamoto K, Saitou K, Hayase S, Kofunato Y, Sato Y, et al. CD44v6, MMP-7 and nuclear Cdx2 are significant biomarkers for prediction of lymph node metastasis in primary gastric cancer. Oncol Rep 2009;22:745-55.

51. Celebiler Cavusoglu A, Kilic Y, Saydam S, Canda T, Baskan Z, Sevinc AI, et al. Predicting invasive phenotype with CDH1, CDH13, CD44, and TIMP3 gene expression in primary breast cancer. Cancer Sci 2009;100:2341-45.

52. Oldenhuis CN, Oosting SF, Gietema JA, de Vries EG. Prognostic versus predictive value of biomarkers in oncology. Eur J Cancer 2008; 44: 946-53.

53. Ong CW, Kim LG, Kong HH, Low LY, Iacopetta B, Soong R, et al. CD133 expression predicts for non-response to chemotherapy in colorectal cancer. Mod Pathol 2010;23:450-57.

54. Murat A, Migliavacca E, Gorlia T, Lambiv WL, Shay T, Hamou MF, et al. Stem cell-related "self-renewal" signature and high epidermal growth factor receptor expression associated with resistance to concomitant chemoradiotherapy in glioblastoma. J Clin Oncol 2008;26:3015-24.

55. Vrzalikova K, Skarda J, Ehrmann J, Murray PG, Fridman E, Kopolovic J, et al. Prognostic value of Bmi-1 oncoprotein expression in NSCLC patients: a tissue microarray study. J Cancer Res Clin Oncol 2008;134:1037-42.

56. Vormittag L, Thurnher D, Geleff S, Pammer J, Heiduschka G, Brunner M, et al. Co-expression of Bmi-1 and podoplanin predicts overall survival in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck treated with radio(chemo)therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2009;73:913-18.

57. Yasuda H, Tanaka K, Saigusa S, Toiyama Y, Koike Y, Okugawa Y, et al .Elevated CD133, but not VEGF or EGFR, as a predictive marker of distant recurrence after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer. Oncol Rep 2009;22:709-17.

58. Schaefer KL, Eisenacher M, Braun Y, Brachwitz K, Wai DH, Dirksen U, et al .Microarray analysis of Ewing's sarcoma family of tumours reveals characteristic gene expression signatures associated with metastasis and resistance to chemotherapy. Eur J Cancer 2008;44:699-709.

59. Yoshikawa R ,Nakano Y, Tao L, Koishi K, Matsumoto T, Sasako M, et al. Hedgehog signal activation in oesophageal cancer patients undergoing neoadjuvant chemoradiotherapy. Br J Cancer 2008;98:1670-74.

60. Salnikov AV, Gladkich J, Moldenhauer G, Volm M, Mattern J, Herr I. CD133 is indicative for a resistance phenotype but does not represent a prognostic marker for survival of non-small cell lung cancer patients. Int J Cancer 2010;126:950-58.

61. Sarvi S, Mackinnon AC, Avlonitis N, Bradley M, Rintoul RC, Rassl DM, et al. CD133+ cancer stem-like cells in small cell lung cancer are highly tumorigenic and chemoresistant but sensitive to a novel neuropeptide antagonist. Cancer Res 2014;74:1554-65.

62. Liu YP ,Yang CJ, Huang MS, Yeh CT, Wu AT, Lee YC, et al. Cisplatin selects for multidrug-resistant CD133+ cells in lung adenocarcinoma by activating Notch signaling. Cancer Res 2013;73:406-16.

Archive of SID

www.SID.ir

63. Danesi R, de Braud F, Fogli S, de Pas TM, Di Paolo A, Curigliano G, et al. Pharmacogenetics of anticancer drug sensitivity in non-small cell lung cancer. Pharmacol Rev 2003;55:57-103.

64. Fan X, Khaki L, Zhu TS, Soules ME, Talsma CE, Gul N, et al. NOTCH pathway blockade depletes CD133-positive glioblastoma cells and inhibits growth of tumor neurospheres and xenografts. Stem Cells 2010;28:5-16.

65. Lee SM, Moon J, Redman BG, Chidiac T, Flaherty LE, Zha Y, et al. Phase 2 study of RO4929097, a gamma-secretase inhibitor, in metastatic melanoma: SWOG 0933. Cancer 2015; 121: 432-40.

66. De Jesus-Acosta A, Laheru D, Maitra A, Arcaroli J, Rudek M, Dasari A, et al. A phase II study of the gamma secretase inhibitor RO4929097 in patients with previously treated metastatic pancreatic adenocarcinoma. Invest New Drugs 2014;32:739-45.

67. Palomero T, Ferrando A. Therapeutic targeting of NOTCH1 signaling in T-cell acute lymphoblastic leukemia. Clin Lymphoma Myeloma 2009;9:S205-10.

68. Westhoff B, Colaluca IN, D'Ario G, DonzelliM, Tosoni D, Volorio S, et al. Alterations of the Notch pathway in lung cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 2009;106:22293-98.

69. Park JT, Li M, Nakayama K, Mao TL, Davidson B, Zhang Z, et al. Notch3 gene amplification in ovarian cancer. Cancer Res 2006;66:6312-18.

70. Lee SH, Jeong EG, Yoo NJ, Lee SH. Mutational analysis of NOTCH1, 2, 3 and 4 genes in common solid cancers and acute leukemias. APMIS 2007;115:1357-63.

71. Fu YP, Edvardsen H, Kaushiva A, Arhancet JP, Howe TM, Kohaar I, et al. NOTCH2 in breast cancer: association of SNP rs11249433 with gene expression in ER-positive breast tumors without TP53 mutations. Mol Cancer 2010;9:113.

72. Villaronga MA, Lavery DN, Bevan CL, Llanos S, Belandia B. HEY1 Leu94Met gene polymorphism dramatically modifies its biological functions. Oncogene 2010;29:411-20.

73. Hart LS, El-Deiry WS. Invincible, but not invisible: imaging approaches toward in vivo detection of cancer stem cells. J Clin Oncol 2008;26:2901-10.

74. Heyn C, Ronald JA, Ramadan SS, Snir JA, Barry AM, MacKenzie LT, et al .In vivo MRI of cancer cell fate at the single-cell level in a mouse model of breast cancer metastasis to the brain. Magn Reson Med 2006;56:1001-10.

75. Riethdorf S, Wikman H, Pantel K. Review: Biological relevance of disseminated tumor cells in cancer patients. Int J Cancer 2008;123:1991-2006.

76. Balic M, Lin H, Young L ,Hawes D, Giuliano A, McNamara G, et al. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype. Clin Cancer 2006;12:5615-21.

77. Theodoropoulos PA, Polioudaki H, Agelaki S, Kallergi G, Saridaki Z, Mavroudis D, et al. Circulating tumor cells with a putative stem cell phenotype in peripheral blood of patients with breast cancer. Cancer let 2010;288:99-106.

78. Lang JE, Hall CS, Singh B, Lucci A. Significance of micrometastasis in bone marrow and blood of operable breast cancer patients: research tool or clinical application? Expert Rev Anticancer Ther 2007;7:1463-72.

79. Slade MJ, Coombes RC. The clinical significance of disseminated tumor cells in breast cancer. Nat Clin Pract Oncol 2007;4:30-41.

80. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. J Natl Cancer Inst 2000;92:205-16.

81. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. N Engl J Med 2008;359:378-90.

82. Hurt EM, Kawasaki BT, Klarmann GJ, Thomas SB, Farrar WL. CD44+ CD24 (-)prostate cells are early cancer progenitor/stem cells that provide a model for patients with poor prognosis. Br J Cancer 2008;98:756-65.

83. Noori-Daloii MR, Maheronnaghsh R, Sayyah MK. Molecular genetics and gene therapy in esophageal cancer: a review article. Tehran University Medical Journal 2011;69:331-43. [In Persian]

84. Seruga B, Zhang H, Bernstein LJ, Tannock IF. Cytokines and their relationship to the symptoms and outcome of cancer. Nat Rev Cancer 2008;8:887-99.

85. Salgado R, Junius S, Benoy I, Van Dam P, VermeulenP, Van Marck E, et al. Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. Int J Cancer 2003;103:642-46.

Archive of SID

www.SID.ir

86. Noori-Daloii MR, Tabarestani S. Molecular genetics, diagnosis and treatment of breast cancer: review article. J Sabzevar Univ Med Sci 2010;17:74-87. [In Persian]

87. Sansone P, Storci G, Tavolari S, Guarnieri T, Giovannini C, Taffurelli M, et al. IL-6 triggers malignant features in mammospheres from human ductal breast carcinoma and normal mammary gland. J Clin Invest 2007;117:3988-4002.

88. Galvani E, Toffalorio F, Peters GJ, De Pas T, Giovannetti E. Pharmacogenetics of non-small cell lung cancer (NSCLC): time to "work it out"? Curr Pharm Des 2014;20:3863-74.

89. Funel N, Giovannetti E, Del Chiaro M, Mey V, Pollina LE, Nannizzi S, et al. Laser microdissection and primary cell cultures improve pharmacogenetic analysis in pancreatic adenocarcinoma. Lab Invest 2008;88:773-84.

90. Robins HS, Campregher PV, Srivastava SK, Wacher A, Turtle CJ, Kahsai O, et al. Comprehensive assessment of T-cell receptor beta-chain diversity in alphabeta T cells. Blood 2009;114:4099-107.

91. Grimshaw MJ, Cooper L, Papazisis K, Coleman JA, Bohnenkamp HR, Chiapero-Stanke L, et al. Mammosphere culture of metastatic breast cancer cells enriches for tumorigenic breast cancer cells. Breast Cancer Res 2008;10:R52.

92. Huang X, Ketova T, Litingtung Y, ChiangC. Isolation, enrichment, and maintenance of medulloblastoma stem cells. J Vis Exp 2010;(43).

93. Duhagon MA, Hurt EM, Sotelo-Silveira JR, Zhang X, Farrar WL. Genomic profiling of tumor initiating prostatospheres. BMC Genomics 2010;11:324.

94. Garraway IP, Sun W, Tran CP, Perner S, Zhang B, Goldstein AS, et al. Human prostate sphere-forming cells represent a subset of basal epithelial cells capable of glandular regeneration in vivo. Prostate 2010;70:491-501.

95. Dubrovska A, Kim S, Salamone RJ, Walker JR, Maira SM, Garcia-Echeverria C, et al. The role of PTEN/Akt/PI3K signaling in the maintenance and viability of prostate cancer stem-like cell populations. Proc Natl Acad Sci U S A 2009;106:268-73.

Archive of SID

www.SID.ir