

Cancer Stem Cells: Cell Heterogeneity in Cancer and Nanotechnology Approaches for Their Treatment

Maryam Karkhane¹,
Abdolrazagh Marzban²,
Alireza Rafiei³,
Javad Akhtari⁴

¹ MSc of Microbiology, Gastroenterology and liver diseases research center, research institute for gastroenterology and liver diseases, Shahid Beheshti University of medical sciences, Tehran, Iran

² PhD Student of Pharmaceutical Biotechnology, Biotechnology Research Center, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

³ Professor, Department of Immunology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, Immunogenetics Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 22, 2015 Accepted December 30, 2015)

Abstract

Cancer stem cells are believed to be responsible for the cancer-initiating step and resistance to chemotherapy drugs. Studies have shown that cancer stem cells are silent and have no metabolic activity. The main reasons behind tumors resistant to therapies are lack of activity of cancer stem cells and division of cancer cells. This cell population, like normal stem cells, is capable of self-renewing and responsible for survival of tumor and its genetic and metabolic differences. Cancer stem cells can undergo chemotherapy during the treatment, but, the incidence of secondary tumor occurs due to unequal division of cancer stem cells and new tumor cells grow that are multi resistant to chemotherapeutic agents. Therefore, identifying and characterizing cancer stem cell will lead to a better understanding of its controlling pathways and developing better diagnostic and therapeutic methodologies in basic and clinical cancer researches. In this review the role of cancer stem cells in development of cancer and their heterogenic properties in gene expression and metabolism of the tumor has discussed. Finally, new therapeutic strategies that are often based on the use of nanocarriers are presented.

Keywords: cancer stem cells, chemotherapy, self-renewal, tumor

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(133): 361-375 (Persian).

سلول های بنیادی سرطانی: ناهمگونی در سلول های سرطانی و راهکارهای نانوتکنولوژی در درمان آنها

مریم کارخانه^۱

عبدالرزاق مرزبان^۲

علیرضا رفیعی^۳

جواد اختری^۴

چکیده

سلول های بنیادی سرطانی (cancer stem cells) به عنوان عامل اصلی بروز سرطان مطرح شده است، به طوری که مقاومت به داروهای شیمی درمانی به وجود این سلول ها در تومور نسبت داده می شود. مطالعات نشان می دهد که سلول های بنیادی سرطانی، خاموش هستند و از نظر فعالیت های متابولیکی غیرفعال می باشند. دلیل اصلی مقاومت دارویی سلول های توموری، عدم فعالیت و تقسیم سلول های بنیادی سرطانی در یک بافت توموری می باشد. این جمعیت سلولی که به صورت غیریکنواخت در درون بافت تومور توزیع شده اند، مانند سلول های بنیادی طبیعی دارای قابلیت خودنوسازی بوده و مسئول بقای تومور و تفاوت خصوصیات ژنتیکی و متابولیکی آن می باشد. سلول های بنیادی سرطانی، در بیماران تحت شیمی درمانی حفظ شده و با تقسیم نابرابر سبب تشکیل سلول های توموری جدید با خصوصیات مقاومت چند گانه می شود. از آن جایی که درک بهتر از چگونگی تشکیل سلول های بنیادی سرطانی و شناسایی مسیرهای کنترلی این سلول ها منجر به توسعه روش های تشخیصی و درمانی در تحقیقات پایه و بالینی سرطان می گردد، در این مطالعه مروری، نقش سلول های بنیادی سرطانی در بروز سرطان و ناهمگونی آنها در بیان ژن ها و متابولیسم تومور تحت بحث و بررسی قرار گرفته است. در انتها نیز راه کارهای نوین درمانی آنها که اکثراً بر مبنای استفاده از نانوحامل هاست، مورد بحث و بررسی قرار می گیرد.

واژه های کلیدی: سلول های بنیادی سرطانی، شیمی درمانی، خودنوسازی، تومور

مقدمه

خودنوسازی (Self renewal) هستند و می توانند به سلول های سرطانی بالغ تمایز یابند. سلول های بنیادی سرطانی مشابه سلول های بنیادی طبیعی بوده و از نظر خصوصیات خودنوسازی و متابولیکی شباهت زیادی با سلول های بنیادی طبیعی دارد (۴،۳). با این وجود بین

بین ناهمگون ژن ها در سلول های سرطانی که منجر به تنوع می شود، پارازیت سلولی گفته می شود (۱). این گونه تنوع در سلول های سرطانی از سلول های بنیادی بافت سرطانی نشأت می گیرد (۲). سلول های بنیادی سرطانی به سلول هایی گفته می شود که دارای قابلیت

E-mail: Javad.Akhtri@gmail.com

مؤلف مسئول: جواد اختری - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، مرکز تحقیقات ژنتیک ایمنی

۱. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

۳. استاد، گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، مرکز تحقیقات ژنتیک ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۳۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۷/۶ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۰/۹

منشأ سلول های بنیادی سرطانی

پس از مطرح شدن نظریه وجود سلول های بنیادی در جمعیت سلول های توموری توسط Bonnet، مطالعات متعددی در رابطه با چگونگی ایجاد این سلول ها انجام شده است. در این خصوص محققین سعی کردند که به یک جمعیت همگون دست پیدا کنند که دارای خصوصیات شبیه به سلول های بنیادی باشند. اگرچه تحقیقات در مراحل اولیه موفقیت آمیز بود، اما در مراحل پیشرفته سرطان نتوانستند به یک جمعیت همگون دست یابند (۱۷-۱۴). در واقع نتایج به دست آمده نشان داد که سلول های بنیادی سرطانی می توانند از سلول های بنیادی طبیعی و یا از سلول های پیش ساز متعهد که توانایی خودنوسازی را کسب کرده اند، مشتق شوند (۲۰-۱۸). ایجاد سلول های بنیادی توموری از چندین جمعیت سلولی، سبب تشکیل جمعیت های سلولی بنیادی ناهمگون (Heterogen) می شود که این جمعیت ها ممکن است در مراحل مختلف بروز سرطان و یا به همراه ایجاد سرطان پیشرفته به وجود آمده باشد. بنابراین پارازیت سلولی ناشی از تغییر در بیان برخی ژن ها که منجر به ایجاد فوتیپ های مختلف در جمعیت سلول های بنیادی می گردد، به عنوان یک هدف اصلی در مسیر بدخیمی و کسب خصوصیات انکوژنیک (Oncogenic) این سلول ها است (۲۱، ۲۲). به عبارت دیگر با ظهور سلول های بنیادی سرطانی در یک تومور، توانایی ذاتی خودنوسازی و تمایز به چندین رده سلولی را به آن داده و بقای آن را در شرایط سخت تضمین می کند. برای مثال در سرطان های سیستم خونی، بعضی اوقات تغییرات انکوژنیک می تواند منجر به ایجاد لوسمی های مختلف شود (۲۳، ۲۴). مثال واضحی از تغییرات آنکوژنیک، جا به جایی کروموزومی مثلاً در کروموزوم فیلادلفیا (Philadelphia-Chromosome) t(9;22) است که منجر به تشکیل انکوپروتئین BCR-ABL p120 در سلول های بنیادی خونی در بیماران مبتلا به لنفوم میلوئید مزمن (Chronic myeloid leukaemia- CML) می شود

سلول های بنیادی سرطانی و طبیعی تفاوت هایی دیده شده است. این تفاوت ها منجر به ایجاد سلول های سرطانی با فعالیت متابولیک متفاوت شده و در مراحل مختلف تکامل تومور، بقای تومور را در شرایط سخت، حتی تحت تأثیر داروهای قوی شیمی درمانی تضمین می کند (۵، ۶). تحقیقات نشان داده است که سلول های سرطانی بنیادی از تغییرات ژنتیکی که در یک جمعیت سلولی رخ می دهد، ایجاد شده و به دنبال تشکیل این سلول ها، نقشه بیان ژنی در سلول های سرطانی دستخوش تغییر می شود (۷، ۸). این تغییرات در سلول ها می تواند منجر به بیان بیش از حد طبیعی برخی ژن ها و خاموش یا کم شدن برخی ژن های دیگر شود. این تغییرات ژنتیکی منجر به ایجاد جمعیت های متفاوتی شده که هر کدام در مواجهه با داروهای ضد توموری، پاسخ های متفاوتی از خود نشان می دهند (۹). نظریه وجود سلول های بنیادی سرطانی در یک جمعیت توموری برای اولین بار توسط Bonnet و همکارش مطرح شد. آن ها با مشاهده یک سیستم شبه خونی در لوکمیا (leukemia) یک جمعیت کوچک سلولی با قابلیت کلون زایی را شناسایی کردند که خصوصیات آن ها شبیه به سلول های بنیادی خونی بود. با توجه به طبیعت کلون زایی و ناهمگون بودن تومورها، آن ها پیشنهاد کردند که یک جمعیت سلولی نادر در سرطان ها وجود دارند که شبیه سلول های بنیادی عمل کرده و مسئول رشد تومور و متاستاز هستند (۱۰). نکته مهم تر این که چنین بافت های غیر نرمالی می توانند حتی در مناطق دورتر از بافت مبدأ سبب ایجاد تومور ثانویه شوند که خصوصیات تومور اولیه را به ارث می برند (۱۱، ۱۲). بنابراین با کشف سلول های بنیادی سرطانی، دیدگاه جدیدی در سرطان شناسی با هدف قرار دادن این سلول ها به منظور یافتن راهکارهای جدید درمانی مد نظر قرار گرفته است (۱۳). این مقاله، مروری بر تعدادی از مطالعات انجام شده در این زمینه می باشد که مباحث پایه ای و بالینی جنبه های مختلف سلول های بنیادی سرطانی را مورد بحث و بررسی قرار می دهد.

که نوعی از یک ناهمگونی در بیان ژن‌ها و پارازیت سلولی در یک جمعیت سلول‌های خونی است (۲۵). در یک زیررده از لوکمی لنفوبلاستیک حاد (Acute lymphoblastic leukaemia- ALL) شکست نقطه‌ای (t(9;22) در سلول‌های بنیادی خونی با مشخصات نشانگر CD-19- CD38- CD+34 دیده شده است که نمونه دیگری از تغییر در نقشه بیان ژنی می‌باشد (۱۸). در لوکمی با بیان آنکوژن AML1-ETO نیز دیده شده است که مشخصات سلول‌های بنیادی خونی آن به صورت CD+34 Thy+CD38-Lin- (Acute myeloid leukaemia-AML) لنفوم میلوئید حاد در مرحله پیشرونده بیماری با ایجاد تغییرات جدید رخ می‌دهد (۲۶). در یک تحقیق انجام گرفته روی موش مشخص شد که تنها جمعیت سلولی Jun B-/- موشی قادر به ایجاد اختلال میلوپرولیفراتیو (Myeloproliferative disorders-MPD) در موش‌های دریافت کننده پیوند بودند. در واقع این آزمایش نشان داد که رده سلولی Jun B-/- در بروز اولیه MPD به عنوان یک جمعیت سلولی بنیادی نقش دارد (۲۷). با وجود این در اکثر این موارد، جهش‌هایی در مراحل مختلف پیشرفت تومور بروز کرده است که برای تغییرات بدخیمی در تومورها ضروری هستند. علاوه بر این که فرضیاتی راجع به ایجاد سلول‌های بنیادی سرطانی از سلول‌های بنیادی طبیعی مطرح شد، مدارکی نیز از ایجاد سلول‌های بنیادی سرطانی از پیش‌سازهای متعهد ارائه شده است. این پیش‌سازها به‌طور طبیعی از سلول‌های بنیادی خونی مشتق می‌شوند، اما قابلیت خودنوسازی آن‌ها محدود نمی‌شود و با تکثیر پیشرونده به سلول‌های عملکردی تمایز می‌یابند. مشاهده شده است که ژن‌های فیوژن آنکوژن مثل ETV6-RUNX1 یا p120 BCR-ABL تنها در سلول‌های پیش‌ساز لنفوسیت B دارای نشانگر CD 19 و CD34 و فاقد نشانگر CD38، در بعضی از بیماران ALL به میزان بالایی بیان می‌شود. از این بیماران لنفوسیت‌های B دارای

مارکر CD19 خالص شده‌اند، اما نه به صورت CD19- CD38 CD34+ که مشخصه سلول‌های بنیادی خونی است. در تجربه دیگری روی موش، با پیوند سلول‌های B دارای نشانگر CD19 به موش‌های دارای نقص ایمنی شدید غیر دیابتی، لوکمی مشاهده شد که این مورد نشان دهنده ایجاد سلول‌های سرطانی از پیش‌سازهای B دارای نشانگر CD19 است (۲۸). در یک مورد لوسمی پرومیلوسیت حاد (Acute promyelocytic leukemia-APML) بیان بالای یک آنکوژن فیوژن PML-RAR α که نتیجه جابجایی به صورت t(15;17) است که تنها در پیش‌سازهای دارای CD38 و فاقد CD34 و نه در سلول‌های بنیادی با نشانگر CD34 و فاقد CD38، عامل ایجاد لوسمی است (۱۹). این تحقیقات نشان می‌دهد که منشأ بدخیمی‌های سیستم خونی می‌تواند سلول‌های بنیادی سرطانی باشد که از پیش‌سازهای متعهد منشأ می‌گیرد. علاوه بر این که خصوصیات سلول‌های بنیادی سرطانی ایجاد شده می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در ایجاد تومورهای مختلف داشته باشد و جمعیت‌های توموری متفاوتی را پدید آورد. در بعضی موارد دیده شده است که ناحیه آناتومیک و محیط اطراف بافت توموری می‌تواند نقش موثری در خصوصیت تومور و بیان ژن‌های مربوط به جایگاه آناتومیک ایفا کند. برای مثال، تحقیقات بر روی اپن‌دیوما که یک سرطان سیستم عصبی مرکزی است، یک اختلاف ناحیه‌ای مربوط به منشأ سلول بنیادی سرطانی را نشان می‌دهد. تیلور و همکاران گزارش کردند که از نقطه‌نظر بافت‌شناسی، یک توده توموری یکسان و شبیه به هم در نواحی مختلف مغزی از جمله Supratentorial، Posterior fossa و ناحیه نخاع، از سلول‌های گلیای تغییر یافته با نشانگر (BLBP+RC+2 Nestin+CD133+RGB) می‌تواند شروع شود. با وجود حفظ کروموزوم‌های غیرطبیعی در این تومورها، تنها طرح بیان ژنی مربوط به جایگاه آناتومیک را به ارث می‌برند (۲۹). اگرچه به نظر می‌رسد

شناسایی سلول‌های بنیادی سرطانی صورت گرفته است. این تحقیقات منجر به شناسایی طیف وسیعی از نشانگرهای اختصاصی روی سطح سلول‌های بنیادی سرطانی شده است. نمونه‌هایی از این نشانگرهای اختصاصی برای سلول‌های بنیادی سرطانی در سلول‌های انسانی و مدل‌های حیوانی تشخیص داده شده است که در جدول شماره ۱ آورده شده است (۳۸).

جدول شماره ۱: نشانگرهای اختصاصی تومورهای سرطانی

نوع تومور	مارکر سطحی
سرطان سینه	CD44+, CD24-, ALDH1+
لنفوم میلونیدی حاد	CD34+, CD38-
سرطان پانکراس	ESA+, CD44+, CD24+, CD133+
سرطان سر و گردن	CD144+
سرطان کولون	CD133+, EpCAMhigh, CD44+, ALDH1+
مغز	CD133+
سرطان پروستات	CD144+, α2β1 high CD133+
سرطان ریه	CD133+
سرطان کبد	CD90+
ملانوما	ABC5+
سرطان تخمدان	CD133+

نشانگرهای اختصاصی چند نوع از سلول‌های بنیادی سرطانی را نشان می‌دهد. هر نوع از سلول‌های بنیادی دارای نشانگرهای خاص خود است که نشان می‌دهد هر تومور خصوصیات منحصر به فردی دارد. سلول‌های بنیادی جداسازی شده از سرطان‌های مختلف، بر اساس نشانگرهای سطحی غشایی شناسایی و خالص شده‌اند (۷).

مکانسیم‌های مولکولی تشکیل سلول بنیادی سرطانی

در تشکیل سلول‌های بنیادی سرطانی، هر دو عامل ذاتی و محیطی می‌تواند کنترل‌کننده سلول‌های بنیادی طبیعی باشد. در نتیجه ممکن است با همکاری همدیگر در تشکیل سلول بنیادی سرطانی نقش داشته باشد. همان گونه که مطالعات مربوط به تاثیر ژنتیک بر روی بدخیمی‌های خونی انسان نشان می‌دهد، بین فعالیت فیوژن انکوژن‌ها در پیش‌سازهای متعهد با توانایی خودنوسازی آن‌ها و جلوگیری از تمایز آن‌ها ارتباط وجود دارد (۴۰، ۳۹). MLL-ENL و MOZ-TIF2 دو انکوژن وابسته به AML هستند که قادرند توانایی خودنوسازی و مسدود کردن مسیر تمایز سلول را به سلول‌های پیش‌ساز میلونیدی اعطا کنند. این

که به‌طور کلی، سلول‌های بنیادی سرطانی از جهش در سلول‌های بنیادی طبیعی و یا پیش‌سازهای سلول‌های بافتی مربوطه ایجاد می‌شوند، اما در بعضی موارد این سلول‌ها از سلول‌های بافت تخصصی دیگر هم مشتق می‌شوند (۳۰). به‌طور نمونه در سرطان معده موش تراویخت که پیوند مغز استخوان روی آن انجام گرفته، ژن انتقال یافته به این موش‌ها LacZ است که به سلول‌های مغز استخوان وارد شده است. این سلول‌های LacZ+ می‌توانند در بافت موکوسی معده لانه‌گزینی کرده و هنگامی که این موش به عفونت القایی ناشی از هلیکوباکتر فلیس (*Helicobacter felis*) (مشابه هلیکوباکتر پیلوری در انسان) مبتلا شود، متاپلازی (Metaplasia)، دیسپلازی و سرطان اینتراپیتلیال را ایجاد کند (۳۱). این وضعیت کمابیش در سرطان معده ناشی از هلیکوباکتری پیلوری در انسان نیز دیده می‌شود (۳۲-۳۴). با مطالعات بیش‌تر در محیط برون‌تنی، محققین پیشنهاد کردند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان می‌تواند کاندیدی برای ایجاد سلول بنیادی سرطانی باشد، اما در این مورد، سلول بنیادی خونی نمی‌توانند سبب بیان ژن‌های مختص سلول‌های موکوسی معده شوند تا دلیلی بر تبدیل سلول‌های مشتق از مغز استخوان به سلول سرطانی باشد (۳۵).

مارکرهای سطحی سلول‌های بنیادی سرطانی

برای این که تصویر درستی از جنبه‌های سلولی و مولکولی و خصوصیات عملکردی سلول‌های بنیادی توموری داشته باشیم، گام اول شناسایی و خالص‌سازی این سلول‌ها به صورت یک جمعیت سلولی همگون است (۳۶). با توجه به این که جمعیت سلول‌های توموری، دارای نقشه بیان ژنی متفاوتی می‌باشند، وجود برخی پروتئین‌های سطحی در سلول‌های بنیادی سرطانی به میزان زیاد می‌تواند یکی از بهترین روش‌های تشخیصی برای جداسازی این سلول‌ها در تومورهای مختلف باشد (۳۷). در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی در زمینه

توموری را تولید کرده و بازگشت تومور اتفاق می‌افتد (۴۷-۴۵).

جدول شماره ۲: مسیرهای سیگنالی که در فرآیند خودنوسازی برخی از سلول‌های بنیادی سرطانی نقش دارد

نوع تومور	مسیر سیگنالی
سرطان سینه	WNT, Hedgehog, Notch, BMI1, PTEN,
سرطان پانکراس	Hedgehog,
گلیوبلاستوما	Hedgehog, Notch, BMI1, BMP, TGF-β
سرطان کولون	Hedgehog
لنفوم میلونیدی حاد موشی	BMI1
لوسمی موشی	PTEN
لنفوم میلونیدی حاد و مزمن	WNT, Hedgehog

سلول‌های سرطانی با مکانیسم‌های متعددی مقاومت به شیمی درمانی را کسب می‌کنند. این مقاومت می‌تواند با موتاسیون در ژنوم آن‌ها که با افزایش بیان هدف‌های دارویی و یا غیرفعال کردن دارو باشد و یا حذف دارو از سلول، صورت می‌گیرد. تومورهایایی که پس از شیمی درمانی اولیه بروز می‌کنند، مقاوم به چند دارو هستند. در دیدگاه قدیمی در مورد مقاومت دارویی سلول سرطانی، این توجیه مطرح بود که در جمعیت توموری‌ای که در معرض دارو قرار گرفته است، یک یا چند سلول، تغییرات ژنتیکی پیدا می‌کنند و به دارو مقاوم می‌شود. این سلول‌ها با کسب یک مزیت انتخابی، اجازه می‌یابند که جمعیت غالب توموری را تشکیل دهند. امروزه مقاومت سلول‌های توموری را به وجود سلول‌های بنیادی سرطانی نسبت می‌دهند که دارای مقاومت ذاتی به داروهای شیمی درمانی هستند و در رشد و بازگشت دوباره تومور با تقسیم شدن به سلول‌های توموری جدید نقش اصلی را به عهده دارند (۴۵، ۴۸، ۴۹). یک مدل دیگری نیز در مورد مقاومت سرطان به شیمی درمانی مطرح شده است که بیان می‌کند کسب مقاومت به داروها در واریانت‌هایی از سلول‌های بنیادی در بیمارانی که تحت درمان شیمیایی قرار گرفته‌اند، موتاسیون‌هایی اتفاق می‌افتد که این جهش‌ها تجمع یافته و مقاومت را در این سلول‌ها ایجاد می‌کند (۱۱).

انکوپروتئین‌ها به تنهایی برای تغییر دادن پیش‌سازهای متعهد (committed progenitor) به سلول بنیادی سرطانی کافی هستند (۳۹). انکوپروتئین دیگر به نام BCR-ABL در CML انسانی، اگرچه سبب تکثیر سلول‌های بنیادی خونی شده و تضمین‌کننده بقای آن‌ها می‌باشد، اما به خودی خود فاقد فعالیت خودنوسازی می‌باشد. به بیان دیگر فعالیت این انکوپروتئین به تنهایی برای ایجاد تغییرات لوکمیک بر روی پیش‌سازهای متعهد میلونیدی کافی نیست (۴۱). این گروه از انکوپروتئین‌ها نیاز به تغییرات بیش‌تر در ژنوم و ضربه دوم در مسیر خودنوسازی دارند. برای مثال به جهش‌های اضافی در مسیرهای سیگنالی Bmi-1 و یا Wnt/βcat به منظور تغییرات کامل نیاز است (۴۲). نقش فیوژن انکوژن‌ها در تحقیق دیگری که روی سلول‌های اپیتلیال انجام گرفته است، مورد تأیید قرار گرفت (۴۳). از آن‌جا که جابه‌جایی قطعات کروموزومی در تومورهای اپیتلیال نادر است، موتاسیون چند مرحله‌ای باید اتفاق بیافتد تا این سلول‌ها به سلول بنیادی سرطانی تبدیل شوند. بنابراین تغییراتی که در مسیر خودنوسازی اتفاق می‌افتد، یک مرحله مهم در روند تبدیل سلول‌ها به سلول بنیادی سرطانی است. تغییر در مسیرهای سیگنالی طبیعی که نقش کنترل‌کننده خودنوسازی را دارد، یکی از مهم‌ترین مراحل ایجاد یک جمعیت سلولی بنیادی با توان خودنوسازی است (۴۴). مثال‌هایی از این مسیرها شامل Sonic Hodgehog، Wnt، Hoxgen و مسیر Notch است. جدول شماره ۲ مسیرهای خودنوسازی در تومورهای مختلف را نشان می‌دهد (۳۸، ۴۴).

مقاومت سلول‌های بنیادی سرطانی به درمان

چالشی که امروزه در درمان سرطان وجود دارد، مقاومت این سلول‌ها به داروهای شیمیایی و پرتودرمانی است. این سلول‌ها طی مراحل درمان، از مکانیسم‌های مختلفی در جهت بقای خود استفاده کرده و پس از دوره‌های شیمی درمانی، با تقسیم نامتقارن، سلول‌های

مکانیسم‌های مقاومت در سلول‌های بنیادی سرطانی متنوع است. در برخی از سلول‌ها، بیان بالای ژن‌های آنتی آپوپتوز (Anti Apoptosis) سبب مهار مسیرهای مرگ سلولی می‌شود. به‌طور کلی سلول‌های بنیادی سرطانی در فاز ساکن هستند و تقسیم نمی‌شوند. بنابراین تحت تاثیر داروهای ضدسرطان و یا پرتودرمانی قرار نمی‌گیرند (۵۰). مکانیسم دیگر، مقاومت چند دارویی سلول‌های بنیادی سرطانی است که می‌تواند ذاتی و یا اکتسابی باشد. مقاومت مثل دارا بودن سیستم ترمیم DNA و بیان کردن پروتئین‌های غشایی کانالی به نام ABC transporter که دارو را به خارج از سلول پمپ می‌کند (۴۹، ۵۱).

مقاومت‌های اکتسابی در طی درمان با تاثیر داروها و اشعه روی ژنوم سلول به دست می‌آید و با تجمع جهش‌های حاصل شده در نسل‌های بعدی با تغییر خصوصیات عملکردی ژن‌ها ممکن است الگوی مقاومت در سلول‌های دختر تغییر کند و موجبات بقای سلول‌ها را فراهم کند. دو گروه ژنی به نام ABCC1 و ABCG2، پروتئین‌های غشایی MRP/ABCC1 و MCRP/ABCG2 را کد می‌کنند که عضوی از خانواده ژن‌های ABC transporter هستند که در سلول‌های توموری پستان به مقدار بالایی بیان می‌شود (۴۱). سلول‌های پستانداران حداقل ۱۵ عضو از فاکتورهای آپوپتوتیک خانواده BCL-2 دارند که مهم‌ترین آن‌ها شامل BCL-2، BCL-X، BCL-W، MCI-1، AL/BF1 و BCL-2 می‌باشند. این گروه ژنی می‌تواند فعال‌کننده آپوپتوز و یا مهارکننده آن باشد که اثرات آن وابسته به میانکشی اعضای آن می‌باشد و در سلول‌های سرطانی مشاهده شده است که بیان ژن‌های آنتی آپوپتوز افزایش و بیان ژن‌های پروآپوپتوتیک کاهش چشمگیری داشته است (۵۲، ۵۳). قابلیت دیگری که در سلول‌های بنیادی سرطانی وجود دارد، افزایش توان ترمیم آسیب‌های DNA است. با اثر داروهای شیمیایی و اشعه بر روی DNA سلول توموری، احتمال آسیب و القای مرگ سلولی

وجود دارد (۴۹). اما در برخی از سلول‌ها، یک مکانیسم ترمیمی آسیب DNA وجود دارد. وقتی که سلول در معرض اشعه و مواد شیمیایی قرار می‌گیرد، بیان ژن‌های اندونوکلاز (Endonuclease)، DNA پلیمراز و DNA لیگاز افزایش یافته و سیستم بسیار کارآمدی شروع به ترمیم DNA آسیب دیده می‌کند (۵۴). مکانیسم بعدی که سبب ایجاد مقاومت در سلول‌های سرطانی شده است، موقعیت هیپوکسیک سلول‌های بنیادی سرطانی است که تامین‌کننده سیگنال‌های رشد، ترانسفورمسیون و حفظ پایداری خود به خودی سلول است. سلول‌های بنیادی در موقعیتی قرار گرفته‌اند که اطراف آن‌ها را سلول‌های توموری، میوفیوبلاست‌ها، سلول‌های پیش‌ساز اپیتلیال و ماتریکس خارج سلولی احاطه کرده است (۵۱، ۵۵). این ساختار فضایی سه بعدی می‌تواند به عنوان سدی در برای سلول‌های بنیادی سرطانی باشد که این سلول‌ها را از داروهای شیمیایی دور نگه می‌دارد. علاوه بر این آسیب‌هایی که توسط اشعه القا می‌شود، نیازمند وجود اکسیژن در محیط می‌باشد و به دلیل وجود شرایط هیپوکسیک، این سلول‌ها تحت تاثیر پرتودرمانی قرار نمی‌گیرند (۵۵). نکته مهمی که در رابطه با این تئوری مدنظر قرار گرفته است، راهکارهایی برای تغییر دادن ریز محیط اطراف سلول‌های توموری به منظور افزایش اثرات داروهای شیمیایی و پرتودرمانی روی این سلول‌ها بوده است. تحقیقات متعددی که در In Vitro انجام شده، نشان می‌دهد که هیپوکسی موجب افزایش بیان ژن‌های MDR1، CXCR و تلومراز شده و سبب رشد تومور و متاستاز آن‌ها می‌گردد.

مطالعات نشان داده است که مکانیسم‌های مقاومت به دارو در هر تومور متفاوت و خاص آن است. بنابراین روش‌های درمانی به کار رفته برای سرطان‌های مختلف متفاوت از دیگری و منحصر به فرد خواهد بود (۵۶، ۵۷).

چشم‌انداز سلول‌های بنیادی سرطانی

با مطرح شدن فرضیه سلول‌های بنیادی سرطانی به

عنوان مهم‌ترین عامل ایجاد تومورهای اولیه و ثانویه، محققین به این نتیجه رسیدند که برای این که بتوان در درمان سرطان به موفقیتی دائمی دست پیدا نمود، بایستی بر روی سلول‌های بنیادی متمرکز شد. با این وجود، باید یادآور شد که علی‌رغم پیشرفت‌های اخیر در زمینه سلول‌های بنیادی سرطانی، دانش ما روی این جمعیت نادر بسیار کم است و سوالات بسیار زیادی بدون پاسخ مانده است. نکته مهمی که در این رابطه بایستی مورد توجه قرار گیرد، ایجاد رده‌های سلولی بسیار متنوع از سلول‌های بنیادی توموری در طی مراحل رشد و پیشرفت سرطان بوده که در این جا به آن به عنوان پارازیت سلولی اطلاق شده است (۵۷). این خصوصیت در حقیقت به نقش بیان برخی ژن‌های کلیدی و ایجاد فنوتیپ‌های منحصر به فرد اشاره می‌کند (۵۸). این تغییرات ژنتیکی که در سطح فنوتیپ بروز می‌کند، می‌تواند به عنوان یک هدف مهم برای تشخیص رده‌های سلولی مختلف در درون یک توده توموری مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین اگر بتوان نقشه بیان تمامی ژن‌ها را در یک تومور به طور همزمان بررسی نمود، از تجزیه و تحلیل آن می‌توان به راه حلی برای هدف قرار دادن آن‌ها دست یافت (۵۹). انواع زیادی از سرطان‌های شناخته شده، بیماری‌های چند مرحله‌ای هستند که در حالت پیشرونده، نهایتاً به مرحله بدخیمی و متاستاتیک می‌رسند. نمونه‌ای از این بیماری‌ها می‌توان به CML اشاره کرد که طی دو مرحله مزمن و لوکمی بروز می‌کند (۱۱). برخی از تومورهای اپیتلیال مانند تومورهای کلون حداقل طی ۵ مرحله آشکار می‌شوند که این مراحل شامل لکه‌های پیش توموری، هیپرپلازی، کارسینوم درجا، کارسینوم تهاجمی و متاستاز است. یکی از سوالات بسیار مهم این است که چگونه می‌توان مراحل پیشرفت سرطان را به سلول‌های بنیادی سرطانی ارتباط داد. برای آگاهی یافتن از نقش هر مرحله در پیشبرد سرطان، بایستی تغییرات در سطح بیان ژن در هر مرحله دنبال گردد تا بتوان به الگوی منطقی مرتبط با پیشرفت تومور دست یافت.

فرضیه‌ای که در این مورد مطرح شده است، وجود جمعیت هتروژنی از سلول‌های بنیادی سرطانی است که هر گروه آن در مرحله‌ای از پیشرفت سرطان نقش دارد که به طور مستقل از هم عمل می‌کنند. برای این منظور بایستی جداسازی، شناسایی مولکول‌های سطحی سلول‌های بنیادی سرطانی، شناسایی این سلول‌ها از بافت‌های توموری و خصوصیات مسیرهای کنترلی آن‌ها به خوبی شناخته شود تا بتوان ارتباط بین سلول‌های بنیادی با بروز بدخیمی‌ها را پیدا نمود. بنابراین تئوری سلول‌های بنیادی سرطانی از دو جهت یکی بررسی و مطالعه روی تعیین منشأ سرطان و دیگری در مطالعات بالینی نقش بسیار مهمی داشته است (۱۱، ۶۰).

راهکارهای نوین درمانی سلول‌های بنیادی سرطانی

در درمان‌های فعلی سرطان، بحث مقاومت دارویی منجر به تجمع سلول‌های بنیادی سرطانی و عود مجدد تومورهای درمان شده می‌شود. به این ترتیب مطالعه متاستاز گسترده طی مراحل نهایی سرطان از اولویت‌های تحقیقاتی است. درمان‌های ترکیبی جدید به صورت هدفمند قسمت‌های مختلف ریزمحیط تومور را هدف قرار داده و هدف نهایی ریشه‌کشی سلول‌های توموری مقاوم به دارو مخصوصاً سلول‌های بنیادی سرطانی است. راهکارهای درمانی متنوعی ارائه شده که مهم‌ترین آن‌ها استفاده از سیستم‌های دارورسانی بر مبنای نانو ذرات می‌باشد. این راهکارها را می‌توان به سه دسته اصلی تقسیم کرد:

۱. دارورسانی هدفمند به سلول‌های بنیادی سرطانی (استفاده از نانوحامل‌های مختلف هم چون لیپوزوم‌ها، میسل‌ها، نانوتیوپ‌ها و نانو ژل‌ها)

۲. هدف قرار دادن ژن‌های مقاوم دارویی

۳. نابودی آشیانه (Niche) سلول بنیادی سرطانی

۱- دارورسانی هدفمند به سلول‌های بنیادی سرطانی

در سال‌های اخیر گسترش سریع نانوتکنولوژی سبب توسعه سیستم‌های دارورسانی بسیاری شده است.

این سیستم‌های نانوذره‌ای پتانسیل غلبه بر بسیاری از محدودیت‌های شناخته شده برای داروهای ضد سرطان هم‌چون محلولیت آبی پایین، پایداری و سمیت غیراختصاصی را دارا هستند (۵۶). در عین حال به‌طور همزمان سبب افزایش زمان در گردش و زیست سازگاری داروی کپسوله شده می‌شوند. رهایش کنترل شده دارو، طراحی منطقی هدفمندسازی اختصاصی سلول‌های سرطانی و تکنیک‌های تشخیصی این سلول‌ها می‌تواند به بهبود سرطان کمک کند (۵۷). در حال حاضر داروهای اثبات شده بسیار کمی ساخته شده‌اند که کارایی بالایی در برابر سلول‌های بنیادی سرطانی دارند، مثلاً سالینومایسین (Salinomycin) که در مقایسه با داروهای فعلی، توانایی بالایی در نابودی سلول‌های بنیادی سرطانی پستان دارد (۶۰). به خاطر سمیت دارویی شدید این دارو در انسان، فقط نانو فرمولاسیون هدفمند سالینومایسین پتانسیل کاربرد موثر در درمان سلول بنیادی سرطانی و تومورهای مقاوم به دارو را دارند. مورد دیگر کورکومین و آنالوگ‌های آن می‌باشد که در سرطان شناسی بالینی به خاطر اثرات ضدسرطانی و پیشگیری کننده و بسیاری خواص دیگر، در تومورهای راجعه کاربرد دارد. نانو فرمولاسیون‌های بسیاری از کورکومین ساخته شده که در یک مقاله مروری بررسی شده است (۶۱).

Nano-Curc لود شده با کورکومین (یک فرمولاسیون تجاری که ۱/۵ درصد آن کورکومین است)، به صورت معنی داری قادر به "مهار رشد کلونوژنیک غیر وابسته به اتصال" (anchorage-independent clonogenic growth) شد و به علاوه سبب کاهش جمعیت سلول‌های بنیادی سرطانی CD133 در مدولابلاستوما و گیلوبلاستوما شد (۶۲). بسیاری از بیومارکرهای سطحی همراه با سلول‌های بنیادی سرطانی هم‌چون CD44 و CD133 را می‌توان به عنوان هدف در درمان سرطان استفاده کرد. گزارش‌های زیادی از هیالورونیک اسید به عنوان یک حامل دارویی اختصاصی علیه CD44 وجود دارد (۶۳).

در مطالعه دیگری برای غلبه بر مشکل بالینی لوسمی میلوئید، از ذرات لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) با قطر بیست نانومتر استفاده شده است که می‌توانند دوز مناسب را در سلول ایجاد کنند. این ذرات علیه عامل تیروزین کینازی Bcr-Abl که در سطح سلول‌های بنیادی سرطانی مربوط به لوسمی بیان بالایی دارند، طراحی شده و نتایج حاکی از جذب اختصاصی آن‌ها به سلول‌های Bcr-Abl مثبت بوده است (۶۴،۶۳). در مطالعات دیگری از لیپوزوم‌ها، میسل‌های پلیمری و نانوذرات سیلیکا هم استفاده شده است (۶۷-۶۵).

۲. هدف قرار دادن ژن‌های فعال در سلول‌های بنیادی سرطانی
رویکردهای جدید هدف قرار دادن ژن‌هایی که باعث مقاومت دارویی در سلول‌های بنیادی سرطانی می‌شوند، بر اساس خاموشی ژنی توسط مهارکننده‌های RNA اختصاصی است (۶۸،۶۹). مثلاً خاموشی ژن MDR1 در تومورهای مقاوم به دارو می‌تواند سبب کاهش بیان انتقال دهنده‌های P-gp شود و بر کارایی شیمی درمانی بیفزاید. پایداری و تجمع پایین این مولکول‌های درمانی به صورت آزاد باعث شده که تلاش‌های زیادی در سال‌های اخیر به منظور طراحی سیستم‌های دارورسانی نانو انجام شود؛ مثلاً در یک مطالعه siRNA علیه MDR1 در نانو ذرات PEG-PLGA به عنوان جزیی از درمان ترکیبی پاکلی تاکسل - si-RNA در تومورهای مقاوم به دارو استفاده شده است (۵۷). در مطالعه دیگری از نانو کمپلکس‌های لیپیدی برای حفاظت siRNA استفاده شده است (۷۰).

۳- نابودی نیچ سلول بنیادی سرطانی

در حال حاضر روش‌های فیزیکی و شیمیایی متنوعی برای نابودی ویژه سلول‌های بنیادی سرطانی و محیط احاطه کننده آن‌ها در حال تحقیق و توسعه است. در بعضی از آن‌ها، هدف رهایش موضعی نانو ذرات حاوی دارو است که پس از آن تابش به منظور فتودینامیک

ترایی انجام می‌شود. در مطالعات متنوعی از نانو ذرات طلا با قطر ده تا بیست نانومتر که با آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه EGFR1 و یا MUC1 تغییر یافته، استفاده می‌شود (۷۱). تابش به نانو ذرات طلا سبب افزایش موضعی دما تا ۶۰ درجه سانتی گراد می‌شود و منجر به نابودی سریع سلول‌های سرطانی می‌شود که این نانو ذرات در آن‌ها تجمع پیدا کرده است. مواردی از فرمولاسیون دو کسورویسین در نانو ذرات آلژینات (۷۲) و فتودینامیک ترایی به دنبال آن وجود دارد. اخیراً Wang و همکاران از نانولوله‌های کربنی تک دیواره متصل به آنتی‌بادی مونوکلونال علیه CD133 برای سلول‌های گلیوبلاستوما استفاده کردند (۷۳) و با استفاده از لیزر به دنبال نابودی نوری-گرمایی آن‌ها بودند. استفاده از امواج مافوق صوت راهکار فیزیکی دیگری است که می‌تواند سبب درمان و نابودی نیچ سلول‌های بنیادی سرطانی شود (۷۴). در یک مطالعه برای درمان اسفروئیدهای سرطان پستان، از نانو ذرات لیپیدی و پلیمری حاوی دارو به همراه امواج اولتراسونیک استفاده شده است. درمان موثر تومورهای جامد نیاز به توزیع یکسان داروهای ضد سرطان در تمام بخش‌های بافت تومور دارد و بایستی غلظت کشنده دارو به همه سلول‌های مقاوم و سلول‌های بنیادی سرطانی برسد. با وجود این، نفوذ نانو ذرات لیپیدی و پلیمری به نواحی هیپوکسیک و نکروز شده تومورهای جامد که حاوی تعداد زیادی سلول‌های بنیادی سرطانی هستند، یک چالش عمده است (۶۹). استفاده از امواج مافوق صوت می‌تواند راه کاری برای رفع این مشکل باشد. در پایان میتوان نتیجه گیری کرد که با مطرح شدن فرضیه سلول‌های بنیادی، تصور بر این است که اگر بتوان

سلول‌های بنیادی سرطانی را از بین برد، موفقیت کاملی در درمان سرطان حاصل خواهد شد. با این وجود، باید یادآور شد که علی‌رغم پیشرفت‌های اخیر در زمینه سلول‌های بنیادی سرطانی، دانش ما روی این جمعیت نادر بسیار کم است و سوالات بسیار زیادی بدون پاسخ مانده است. برای درمان سرطان ابتدا باید آن را به خوبی شناخت و شناسایی سلول‌های بنیادی سرطان می‌تواند این راه را کوتاه و هموار کند. محققان بسیاری معتقدند که به جای تمرکز بر درمان تومورهای جامد، بایستی بر متاستاز و حذف کامل سلول‌های بنیادی سرطانی متمرکز شد و در این راه از راهکارهای غلبه بر مقاومت دارویی و درمان‌های ترکیبی استفاده کرد. نانو پزشکی، پتانسیل بالایی برای سرعت بخشیدن به توسعه راهکارهای موثر برای درمان مقاومت دارویی و سرطان‌های راجعه دارد. با وجود این، علی‌رغم پیشرفت‌های مشخص در توسعه سیستم‌های دارو رسانی ذره ای و دیگر راهکارهای بر مبنای نانو، موانع جدی از قبیل جذب و توزیع نامناسب در بافت تومور، ممانعت توسط اندام ها و ماکروفاژهای سیستم رتیکولاندوتلیال بعد از تجویز سیستمیک و فراهمی زیستی خوراکی محدود در قالب این روش‌های درمانی، در شرایط درون تنی (In vivo) وجود دارد. به علاوه نوسان در این سیستم‌های دارویی به خاطر هم پوشانی فاکتورهای مختلف (همچون ساختار، اندازه، بار، شکل، تغییرات سطحی و نوع حامل) ممکن است بر ویژگی‌ها و حتی فرمولاسیون داروهای نانو فرموله شده تاثیر بگذارد. امید است ترکیب روش‌های درمانی نوین راه را برای درمان سرطان و ریشه کن کردن آن هموار کند، هدفی که آرزوی بشر امروز است.

References

1. Johnston IG, Gaal B, das Neves RP, Enver T, Iborra FJ, Jones NS. Mitochondrial Variability as a Source of Extrinsic Cellular Noise. *PLoS Comput Biol* 2012; 8(3): e1002416.
2. Enver T, Heyworth CM, Dexter TM. Do Stem Cells Play Dice? *Blood* 1998; 92(2): 348-351.

3. Rizzino A. The Cancer Stem Cell Hypothesis and Its Impact on the Design of New Cancer Therapies In: Stem Cells and Cancer Stem Cells. New York: Springer Dordrecht Heidelberg London; 2012.
4. Zhang Y, Wu M, Han X, Wang P, Qin L. High-Throughput, Label-Free Isolation of Cancer Stem Cells on the Basis of Cell Adhesion Capacity. *Angew Chem Int Ed Engl* 2015; 54(37): 10838-10842.
5. Magee JA, Piskounova E, Morrison SJ. Cancer Stem Cells: Impact, Heterogeneity, and Uncertainty. *Cancer Cell* 2012; 21(3): 283-296.
6. Wilting RH, Dannenberg JH. Epigenetic mechanisms in tumorigenesis, tumor cell heterogeneity and drug resistance. *Drug Resist Updat* 2012; 15(1-2): 21-38.
7. Csermely P, Hódsági J, Korcsmáros T, Módosb D, Perez-Lopez ÁR, Szalay K, et al. Cancer stem cells display extremely large evolvability: alternating plastic and rigid networks as a potential mechanism: Network models, novel therapeutic target strategies, and the contributions of hypoxia, inflammation and cellular senescence. *Seminars in Cancer Biology* 2015; 30: 42-51.
8. Meacham CE, Morrison SJ. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature* 2013; 501(7467): 328-337.
9. Rapin N, Bagger FO, Jendholm J, Mora-Jensen H, Krogh A, Kohlmann A, et al. Comparing cancer vs normal gene expression profiles identifies new disease entities and common transcriptional programs in AML patients. *Blood* 2014; 123(6): 894-904.
10. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3(7): 730-737.
11. Guo W, Lasky JL, Wu H. Cancer Stem Cells. *Pediatr Res* 2006; 59(4): 59-64.
12. Sampieri K, Fodde R. Cancer stem cells and metastasis. *Seminars in Cancer Biology* 2012; 22(3): 187-193.
13. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev* 2005; 5(4): 275-284.
14. Cammareri P, Lombardo Y, Francipane MG, Bonventre S, Todaro M, Stassi G. Isolation and Culture of Colon Cancer Stem Cells. *Methods Cell Biol* 2008; 86: 311-24.
15. Pattabiraman DR, Weinberg RA. Tackling the cancer stem cells-what challenges do they pose? *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13(7): 497-512.
16. Hedayatizadeh-Omran A, Valadan R, Rafiei A, Tehrani M, Alizadeh-Navaei R. VERO Stable Cell Lines Expressing Full-Length Human Epidermal Growth Factor Receptors 2 and 3: Platforms for Subtractive Phage Display. *DNA Cell Biol* 2015; 34(9): 573-578.
17. Akbari A, Ghahremani MH, Mobini GR, Abastabar M, Akhtari J, Bolhassani M, et al. Down-regulation of miR-135b in colon adenocarcinoma induced by a TGF- β receptor I kinase inhibitor (SD-208). *Iran J Basic Med Sci* 2015; 18(9): 856.
18. Crowe DL, Parsa B, Sinha UK. Relationships between stem cells and cancer stem cells. *Histol Histopathol* 2004; 19(2): 505-509.
19. Drewa T, Styczynski J, Szczepanek J. Is the cancer stem cell population "a player" in multi-drug resistance? *Acta Pol Pharm* 2008; 65(4): 493-500.
20. Castor A, Nilsson L, Astrand-GI, Buitenhuis M, Ramirez C, Anderson K. Distinct patterns of hematopoietic stem cell involvement in acute lymphoblastic leukemia. *Nat Med* 2005; 11(6): 630-637.

21. Pierce GB, Wallace C. Differentiation of malignant to benign cells. *Cancer Res* 1971; 31(2): 127-134.
22. Huang S, Ernberg I, Kauffman S. Cancer attractors: a systems view of tumors from a gene network dynamics and developmental perspective. *Semin Cell Dev Biol* 2009; 20(7): 869-876.
23. Hansson F, Toporski J, Månsson R, Johansson B, Eirik S, Jacobsen W, et al. Exit of pediatric pre-B acute lymphoblastic leukaemia cells from the bone marrow to the peripheral blood is not associated with cell maturation or alterations in gene expression. *Mol Cancer* 2008; 7(67): 1-6.
24. Pui CH. Acute Lymphoblastic Leukemia: Introduction. *Semin Hematol* 2009; 46(1): 1-2.
25. Jamieson CH. Chronic Myeloid Leukemia Stem Cells. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 1: 436-442.
26. Petrie K, Zelent A. AML1/ETO, a promiscuous fusion oncoprotein. *Blood* 2007; 109(10): 4109-4110.
27. Passegue E, Wagner EF, Weissman IL. Jun B deficiency leads to a myeloproliferative disorder arising from hematopoietic stem cells. *Cell* 2004; 119(3): 431-443.
28. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414(6859): 105-111.
29. Fusi A, Reichelt U, Busse A, Ochsenreither S, Rietz A, Maisel M, et al. Expression of the stem cell markers nestin and CD133 on circulating melanoma cells. *Journal of Investigative Dermatology* 2011; 131(2): 487-494.
30. Taylor MD, Poppleton H, Fuller C, Su X, Liu Y, Jensen P, et al. Radial glia cells are candidate stem cells of ependymoma. *Cancer Cell* 2005; 8(4): 323-335.
31. Houghton J, Stoicov C, Nomura S, Rogers AB, Carlson J, Li H, et al. Gastric cancer originating from bone marrow derived cells. *Science* 2004; 306(5701): 1568-1571.
32. Amjadi O, Rafiei A, Ajami A, Hosseini V, Asgarian-Omran H. Inflammation, a key factor in cancer ambush. *Res Mol Med* 2014; 2(2): 1-15.
33. Shadman M, Ajami A, Rafiei A, Hussein-Nattaj H, Hosseini V, Taghvaei T, et al. Phenotypic evaluation of natural killer (NK) and natural killer T (NKT)-like cells in patients with peptic ulcer and gastric cancer caused by *Helicobacter pylori* infection. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2014; 23(110): 165-173 (Persian).
34. Rafiei A, Hosseini V, Janbabai G, Fazli B, Ajami A, Hosseini-Khah Z, et al. Inducible nitric oxide synthetase genotype and *Helicobacter pylori* infection affect gastric cancer risk. *World J Gastroenterol* 2012; 18(35): 4917-4924.
35. Ando S, Abe R, Sasaki Mi, Murata J, Inokuma D, Shimizu H. Bone Marrow-Derived Cells Are Not the Origin of the Cancer Stem Cells in Ultraviolet-Induced Skin Cancer. *Am J Pathol* 2009; 174(2): 595-601.
36. Dick JE. Looking ahead in cancer stem cell research. *Nat Biotechnol* 2009; 27(1): 44-46.
37. Klonisch T, Wiechec E, Hombach-Klonisch S, Ande SR, Wesselborg S, Schulze-Osthoff K, et al. Cancer stem cell markers in common cancers-therapeutic implications. *Trends Mol Med* 2008; 14(10): 450-460.
38. O'Brien CA, Kreso A, Jamieson C H. Cancer Stem Cells and Self-renewal. *Clin Cancer Res* 2010; 16(12): 3113-3120.
39. Huntly BJ, Shigematsu H, Deguchi K, Lee BH, Mizuno S, Duclos N, et al. MOZ-TIF2,

- but not BCR-ABL, confers properties of leukemic stem cells to committed murine hematopoietic progenitors. *Cancer Cell* 2004; 6(6): 587-596.
40. Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ, Muijtjens M, Jones C, Zehnder JL, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med* 2004; 351(7): 657-667.
 41. Jaiswal S, Traver D, Miyamoto T, Akashi K, Lagasse E, Weissman IL, et al. Expression of BCR/ABL and BCL-2 in myeloid progenitors leads to myeloid leukemias. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(17): 10002-10007.
 42. Liu S, Dontu G, Mantle ID, Patel S, Ahn NS, Jackson KW, et al. Hedgehog Signaling and Bmi-1 Regulate Self-renewal of Normal and Malignant Human Mammary Stem Cells. *Cancer Res* 2006; 66(12): 6063-6071.
 43. Kim S, Lim B, Kim J. EWS-Oct-4B, an alternative EWS-Oct-4 fusion gene, is a potent oncogene linked to human epithelial tumours. *British Journal of Cancer* 2010; 102(2): 436-446.
 44. Li Z, Tognon CE, Godinho FJ, Yasaitis L, Hock H, Herschkowitz JI, et al. ETV6-NTRK3 Fusion Oncogene Initiates Breast Cancer from Committed Mammary Progenitors via Activation of AP1 Complex. *Cancer Cell* 2007; 12(6): 542-558.
 45. Chuthapisith S. Cancer Stem Cells and Chemoresistance. *Cancer Stem Cells Theories and Practice*. Shostak S. Ebook, InTech, 2011, 414-422.
 46. Ajani JA, Izzo JG, Lee JS. Chemotherapy and Radiotherapy Resistance: Complexity, Reality, and Promise. *J Clin Oncol* 2008; 27(1): 162-163.
 47. Li X, Lewis M T, Huang J, Gutierrez C, Osborne CK, Wu MF, et al. Intrinsic Resistance of Tumorigenic Breast Cancer Cells to Chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(9): 672-679.
 48. Akbari A, Mobini GR, Maghsoudi R, Akhtari J, Faghihloo E, Farahnejad Z. Modulation of transforming growth factor- β signaling transducers in colon adenocarcinoma cells induced by staphylococcal enterotoxin B. *Molecular Medicine Reports* 2016; 13(1): 909-914.
 49. Dean M. ABC Transporters, drug Resistance, and Cancer Stem Cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2009; 14(1): 3-9.
 50. Flamant L, Notte A, Ninane N, Raes M, Michiels C. Anti-apoptotic role of HIF-1 and AP-1 in paclitaxel exposed breast cancer cells under hypoxia. *Mol Cancer* 2010; 9: 2-15.
 51. Johannessen TCA, Bjerkvig R, Tysnes BB. DNA repair and cancer stem-like cells- Potential partners in glioma drug resistance? *Cancer Treat Rev* 2008; 34: 558-567.
 52. Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Birnbaum D. Breast cancer stem cells: tools and models to rely on. *BMC Cancer* 2009; 9: 202.
 53. Pajonka F, Vlashia E, McBride WH. Radiation Resistance of Cancer Stem Cells: The 4 R's of Radiobiology Revisited. *Stem Cells* 2010; 28(4): 639-648.
 54. Li L, Neaves WB. Normal Stem Cells and Cancer Stem Cells: The Niche Matters. *Cancer Res* 2006; 66(9): 4553-4558.
 55. Yu H, Zhang CM, Wu YS. Research progress in cancer stem cells and their drug resistance. *Chin J Cancer* 2010; 29(3): 261-264.
 56. Brock A, Krause S, Ingber DE. Control of cancer formation by intrinsic genetic noise and microenvironmental cues. *Nat Rev Cancer* 2015; 15(8): 1-11.

57. Valadan R, Rafiei A, Tehrani M, Nejatollahi F. Resistance to HER2-targeted therapy. *Res Mol Med (RMM)* 2013; 1(1): 1-9.
58. Hu J, Locasale JW, Bielas JH, O'Sullivan J, Sheahan K, Cantley LC, et al. Heterogeneity of tumor-induced gene expression changes in the bolic human metanetwork. *Nat Biotechnol* 2013; 31(6): 522-529.
59. Mwenifumbo JC, Marra MA. Cancer genome-sequencing study design. *Nature Reviews Genetics* 2013; 14: 321-332.
60. Koshiji M, To KK, Hammer S, Kumamoto K, Harris AL, Modrich P, et al. HIF-1_α Induces Genetic Instability by Transcriptionally Down regulating MutS-Expression. *Mol Cell* 2005; 17(6): 793-803.
61. Mimeault M, Batra SK. Potential applications of curcumin and its novel synthetic analogs and nanotechnology-based formulations in cancer prevention and therapy. *Clin Med* 2011; 6: 31.
62. Lim KJ, Bisht S, Bar EE, Maitra A, Eberhart CG. A polymeric nanoparticle formulation of curcumin inhibits growth, clonogenicity and stem-like fraction in malignant brain tumors. *Cancer Biol Ther* 2011; 11(5): 464-473.
63. Banzato A, Bobisse S, Rondina M, Renier D, Bettella F, Esposito G, et al. A paclitaxel-hyaluronan bioconjugate targeting ovarian cancer affords a potent in vivo therapeutic activity. *Clin Cancer Res* 2008; 14(11): 3598-3606.
64. Guo J, Zhou J, Ying X, Men Y, Li RJ, Zhang Y, et al. Effects of stealth liposomal daunorubicin plus tamoxifen on the breast cancer and cancer stem cells. *J Pharm Pharm Sci* 2010; 13(2): 136-151.
65. Mamaeva V, Rosenholm JM, Bate-Eya LT, Bergman L, Peuhu E, Duchanoy A. et al. Mesoporous silica nanoparticles as drug delivery systems for targeted inhibition of notch signaling in cancer. *Mol Ther* 2011; 19(8): 1538-1546.
66. Akhtari J, Ebrahimnejad P, Rafiei A. A Review on the Use of Nanoparticles in the Release of Growth Factors. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 24(122): 424-439.
67. Akhtari J, Abastabar M, Abediankenari S. Application of Nanocarriers in Immunogenicity against Diseases. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 24(121): 431-445.
68. Liu C, Zhao G, Liu J, Ma N, Chivukula P, Perelman L, et al. Novel biodegradable lipid nano complex for siRNA delivery significantly improving the chemosensitivity of human colon cancer stem cells to paclitaxel. *J Control Release* 2009; 140(3): 277-283.
69. Alavizadeh SH, Akhtari J, Badiie A, Golmohammadzadeh S, Jaafari MR. Improved therapeutic activity of HER2 Affibody-targeted cisplatin liposomes in HER2-expressing breast tumor models. *Expert Opin Drug Deliv* 2015; 1-12.
70. Mottaghi-Dastjerdi N, Soltany-Rezaee-Rad M, Ajami A, Rafiei A, Abediankenari S, Gharaee E, et al. Production of Cyclin D1 specific siRNAs by double strand processing for gene therapy of ESCC. *Res Mol Med* 2013; 1(1): 10-16.
71. Glazer ES, Zhu C, Massey KL, Thompson CS, Kaluarachchi WD, Hamir AN, et al. Noninvasive radiofrequency field destruction of pancreatic adenocarcinoma xenografts treated with targeted gold nanoparticles. *Clin Cancer Res* 2010; 16(23): 5712-5721.
72. Khadair A, Chen D, Patil Y, Ma L, Dou QP, Shekhar MP, et al. Nanoparticle-mediated combination chemotherapy and photodynamic therapy overcomes tumor drug resistance. *J Control Release* 2010; 141(2): 137-144.

73. Wang L, Long L, Wang W, Liang Z. Resveratrol, a potential radiation sensitizer for glioma stem cells both in vitro and in vivo. *J Pharmacol Sci* 2015; 129(4): 216-225.
74. Grainger SJ, Serna JV, Sunny S, Zhou Y, Deng CX, El-Sayed ME. Pulsed ultrasound enhances nanoparticle penetration into breast cancer spheroids. *Mol Pharm* 2010; 7(6): 2006-2019.