Review Article

Helicobacter pylori Infection and Stem Cells: Two Main Factors at the Origin of Gastric Cancer

Negin Raei[1], Saeid Latifi-Navid[2], Saber Zahri[3]

[1] Researcher, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[3] Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

ABSTRACT

Background:
Helicobacter pylori was the main cause of gastric cancer (GC) in all over the world that results in intestinal- and diffuse-type carcinoma. Infection by this bacterium remains chronic for a long time. In vitro studies have highlighted the role of stem cells in GC. *H. pylori* infection results in tissue injury and the adult/tissue stem cells subsequently start to replace the dead cells. The genetic alteration within those cells may be the cause of development of GC, suggesting cancerous cells in the stomach are derived from tissue stem cells. Studies have proved that the bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) take part in repair of the injured gastric tissue. When there was injury, the BM-MSCs migrate from bone marrow and participate in the repair of injured tissue that results in the progression of GC. Cancer stem cells (CSCs) harbor markers, targeting these markers via nano-drug systems can be used for GC therapy.

Keywords: Insulinoma ; Endosonography; Pancreas; Iran

please cite this paper as:
Raei N , Latifi-Navid S, Zahri S. Helicobacter pylori Infection and Stem Cells: Two Main Factors at the Origin of Gastric Cancer. *Govaresh* 2016;20:219-229.

Corresponding author:
Saeid Latifi-Navid, Ph.D
Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, 56199-11367 Iran
Telefax: + 98 451 5514701
E-mail: slatifin@yahoo.com
Received: 12 Sep. 2015
Edited: 19 Nov. 2015
Accepted: 20 Nov. 2015

مقاله مروری

عفونت هلیکوباکترپیلوری و سلول های بنیادی: دو عامل اصلی در ایجاد سرطان معده

نگین راعی[۱]، سعید لطیفی نوید[۲]، صابر زهری[۳]

[۱] پژوهشگر، گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[۲] استادیار، گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[۳] دانشیار، گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده

عفونت هلیکوباکترپیلوری (Helicobacter pylori) به عنوان عامل اصلی شناخته شده برای سرطان معده در جهان می باشد که منجر به کارسینوم نوع روده ای و متراکم می شود. آلودگی با این باکتری در حالت مزمن به صورت طولانی مدت باقی می ماند. مطالعات آزمایشگاهی نقش سلول های بنیادی (SCs) را در سرطان معده برجسته کرده است. عفونت هلیکوباکترپیلوری منجر به آسیب بافتی شده و متعاقب آن سلول های بنیادی بافت معده (adult/tissue stem cells) شروع به جایگزینی سلول های مرده می کنند. از این رو تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در این سلول ها امکان گسترش سرطان را فراهم کرده و نشان می دهد که سلول های سرطانی در معده امکان دارد از سلول های بنیادی بافتی معده مشتق شده باشند. مطالعات بیشتر نشان داده است که سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان (BM-MSCs) نیز در ترمیم آسیب بافتی معده شرکت می کنند. به هنگام آسیب بافتی، سلول های بنیادی مشتق از مغز استخوان به محل آسیب دیده مهاجرت می کنند و در نتیجه‌ی تمایز غیر طبیعی به هنگام ترمیم ناحیه آسیب دیده، منجر به گسترش سرطان معده می شوند. سلول های بنیادی سرطانی دارای نشانگر هایی هستند که هدف گیری این نشانگر ها به عنوان اهداف اختصاصی با استفاده از نانو دارو ها می تواند منجر به درمان سرطان معده گردد.

کلید واژه: هلیکوباکترپیلوری، سلول های بنیادی سرطانی (CSCs)، سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان (BM-MSCs)، سرطان معده

گوارش/ دوره ۲۰، شماره ۴/ زمستان ۱۳۹۴/ ۲۲۹-۲۱۹

زمینه و هدف:

هلیکوباکترپیلوری به عنوان کارسینوژن نوع I، توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) شناخته شده است.(۱) این باکتری دارای فاکتور های مختلف از قبیل فاکتور های چسبندگی، VacA، CagA و پلی مورفیسم های آن، CagL می باشد. این فاکتور ها و پلی مورفیسم های ژنتیکی آن ها با پیامد های بالینی ارتباط قوی دارند. ناحیه خاصی نیز شناسایی شده که خطر ابتلا به سرطان معده را افزایش می دهد، این ناحیه، جزیره ی بیماری زای (cag PAI) cag نام دارد.(۵-۲) مطالعات نشان داده اند که vacA و cagA دو فاکتور بیماری زای مهم در هلیکوباکترپیلوری هستند

نویسنده مسئول: سعید لطیفی نوید
اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده علوم، بخش زیست شناسی، گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، کد پستی: ۵۶۱۹۹-۱۱۳۶۷،
تلفن و نمابر: ۵۵۱۴۷۰۱ -۰۴۵۱
پست الکترونیک : slatifin@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۲۱
تاریخ اصلاح نهایی: ۹۴/۸/۲۸
تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۲۹

که به طور عمده در آسیب سلول اپی تلیال و التهاب مزمن شرکت می کنند و می توانند منجر به سرطان شوند.(۹-۶) ژن vacA تنوع آللی در سه ناحیه مختلف دارد: ناحیه s (single) (آلل ها: s2a، s1b، s1c، s2)، ناحیه m (آلل ها: m1 و m2) و یک ناحیه میانی(intermediate) i (آلل ها: i1 و i2) که اخیرا شناسایی شده است، سویه های کایمریک s1/m1 vacA، دارای قدرت واکوئول زایی بالاتری هستند.(۱۱،۱۰،۶) ناحیه ی پلی مورفیک i که توسط رید[1] و همکاران شناسایی شد، در ارتباط با سرطان معده در ایران می باشد.(۱۴-۱۲) التهاب معده ی تحریک شده به وسیله ی هلیکوباکترپیلوری قوی ترین فاکتور خطر برای سرطان معده می باشد اما فقط درصد کمی از افراد آلوده حالت بدخیمی را نشان می دهند. مطالعات نشان می دهند که میانکنش بین میزبان و فاکتور های محیطی به ویژه آلودگی با هلیکوباکترپیلوری نقش اساسی در ایجاد سرطان معده دارد.(۱۵) سرطان معده شایع ترین بدخیمی در ایران است و شیوع آن در استان اردبیل که در شمال غرب این کشور واقع است بسیار بالا می باشد.(۱۷،۱۶) سویه های ایرانی از لحاظ نیایی شبیه به سویه های اروپایی این باکتری می باشند.(۱۸) نیای اروپایی توسط آمیختگی دو جمعیت نیایی مجزا، AE1 و AE2 تشکیل شده که نسبت های نیایی آن ها براساس مکان جغرافیایی

1. Read

متغیر می باشد که سویه های ایرانی توزیع نسبتا یکسانی از دو نیا را نشان می دهند.(۱۹) در ایران سرطان معده شایع ترین سرطان در مردان و به عنوان سومین سرطان بعد از سرطان سینه و کولورکتال در زنان گزارش شده است.(۲۱ و ۲۰)

سلول های بنیادی، سلول های چند توان هستند که دارای توانایی خود نوزایی و تمایز چند بعدی می باشند، که به سلول های پیش ساز یا precursor با تمایز تک بعدی متمایز می شوند. این سلول ها در سلول های توموری نیز وجود دارند که در زایش (generation) و باززایی (regeneration) بافت توموری به عنوان پایه ی تشکیل و گسترش تومور دخالت می کنند. نظریه ی سلول های بنیادی سرطانی (CSCs) بیان می کند که سلول های کمی در بافت های سرطانی به عنوان سلول های بنیادی سرطانی عمل می کنند و خاصیت خودنوزایی، تکثیر و پتانسیل تمایز چند بعدی را دارند. با افزایش دائمی حجم توده ی تومور، این سلول ها نقش اساسی در تهاجم و گسترش تومور ایفا کرده و منجر به مقاومت به دارو در طول شیمی درمانی و رادیودرمانی می شوند و مهاجرت و متاستاز انجام می دهند و سریعا به تومور های جدید تبدیل می شوند.(۲۴-۲۲)

طبقه بندی سلول های بنیادی براساس میزان پتانسیل تکثیری

سلول های بنیادی همه توان (Totipotent Stem Cells): این سلول ها دارای بیشترین خاصیت خودنوسازی بوده و با انجام تقسیمات همراه با تمایز می توانند یک موجود کامل را ایجاد نمایند. سلول های مشتق از جنین اولیه (Early Embryo) یا سلول های بلاستومر (Blastomere) تنها جمعیت سلولی هستند که در این گروه قرار دارند.

سلول های بنیادی پر توان (Pluripotent Stem Cells): این گروه توانایی تولید تمامی اندام های یک موجود زنده را دارند که سلول های مشتق از جنین ثانویه (Older Embryo) در این گروه قرار دارند.

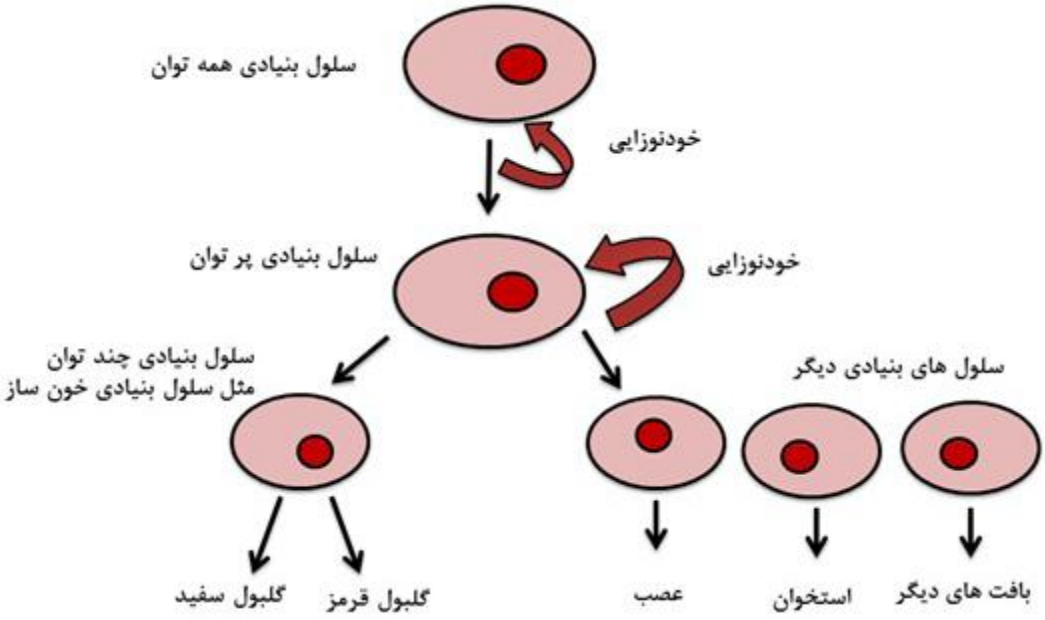
سلول های بنیادی چند توان (Multipotent Stem Cells): این سلول ها دارای پتانسیل تکثیری کمتر نسبت به دو گروه قبلی هستند و این سلول ها محدود به یک لایه ی زایا و یا یک رده سلولی خاص هستند. مثلا سلول های بنیادی خون ساز (Hematopoietic Stem Cells). (۲۵و۲۶) (شکل ۱)

سلول های بنیادی سرطانی معده و سرطان معده: مانند سایر سلول های بنیادی، سلول های بنیادی سرطانی یک گروهی از سلول های ناهمگون هستند که می توانند خودنوزایی کنند و پتانسیل برای تمایز متعدد، متاستاز و مقاومت دارویی را دارند.(۲۷) منبع سلول های بنیادی سرطانی معده ممکن است مرتبط با سلول های بنیادی معده باشد. سلول های اپی تلیال معده دائما سلول های آسیب دیده و مرده را جایگزین می کنند تا اینکه پایداری و هومئوستازی خود را حفظ کنند. تحت شرایط فیزیولوژیکی طبیعی، سلول های اپی تلیال معده یک بار در طی ۷-۲ روز بازسازی می کنند. هنگامی که آسیب بافتی ایجاد می شود این سلول های اپی تلیال سریعا بازسازی را انجام می دهند. در طی این فرایند سلول های بنیادی نقش اساسی را ایفا می کنند.(۲۸) برچسب زنی سلول های بنیادی به روش های شیمیایی به منظور نمایان ساختن جهش ها و به دام انداختن سلول های زاده شده از آن ها می باشد.(۲۹) هنگامی که سرطان معده گسترش می یابد سلول های اپی تلیال معده شروع به تقسیم می کنند و از موکوس طبیعی معده به گاستریت آتروفی، متاپلازی معده ای، هایپرپلازی غیر تیپیک و سرطان معده تبدیل می شوند. تاتماستا[1] و همکاران(۳۰) اظهار کردند که سلول های بنیادی سرطانی به سلول های روده ای و معده ای در طی فرایندی که متاپلازی روده ای نامیده می شود تبدیل می شوند. (شکل ۲) سلول های سرطانی معده به عنوان سلول هایی با فنوتیپ معده ای و روده ای طبقه بندی شده اند. سرطان معده در نتیجه ی سرطانی شدن سلول های بنیادی ایجاد شده و در واقع سلول های بنیادی سرطانی از سلول های بنیادی معده (سلول های بنیادی بالغ یا بافتی معده= tissue/ adult stem cells) مشتق شده اند.

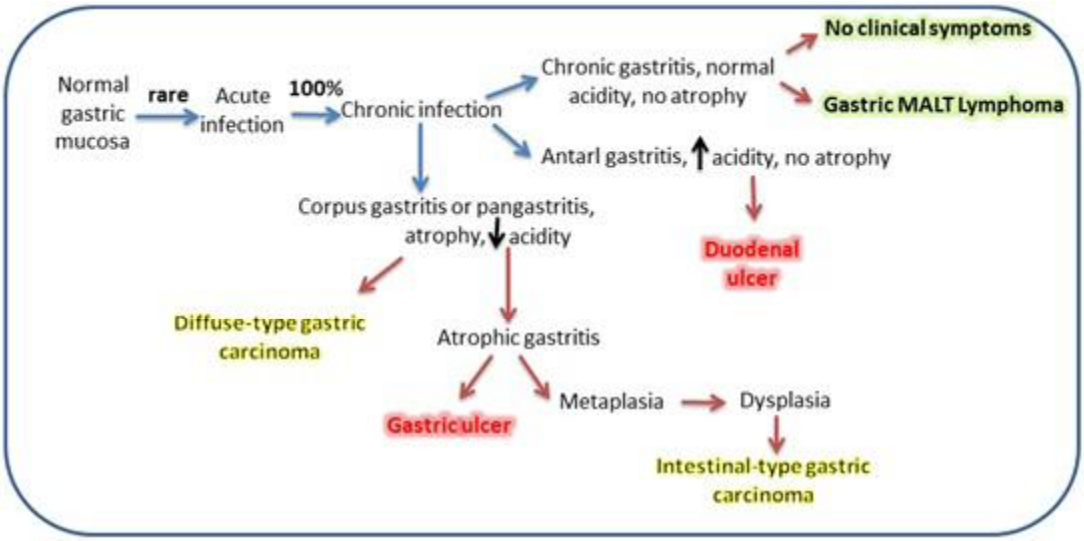
نظریه ی دیگری وجود دارد که سلول های بنیادی معده از سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان (BM-MSCs) مشتق شده اند.(۳۱) این سلول ها نوعی سلول های بنیادی بالغ هستند که پایه ی ژنتیکی یکسانی با دیگر سلول ها در بافت ها و اندام ها دارند. آن ها می توانند مهاجرت و باززایی کنند و پتانسیل برای تمایز متعدد دارند. از یک طرف سلول های بنیادی خون ساز از طریق هایپرپلازی و مکمل های تمایزی ایجاد می شوند که موجب پایداری سیستم های خون ساز و لنفاوی می شوند.(۳۲) از طرف دیگر مکمل های مورد نیاز برای باززایی دیگر بافت ها و اندام ها را فراهم میکنند مثل سلول های ایمنی که به شکل آمیبی از طریق مویرگ ها حرکت می کنند و وارد بافت های جامد می شوند. هنگامی که آسیبی وجود دارد سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان حرکت می کنند و در تعمیر و بازسازی بافت آسیب دیده شرکت می کنند.(۳۳و۳۴) هنگامی که آسیب معده به وسیله هلیکوباکتر فلیس[2] ایجاد شد، سلول های بنیادی مشتق از مغز استخوان به اپی تلیوم معده مهاجرت کرده و در تعمیر و بازسازی بافت شرکت کردند، که نشان دهنده دخالت سلول های بنیادی مشتق از مغز استخوان در گسترش سرطان معده می باشد.(۳۵)

در مدل موشی آلوده با H. felis اثبات شده که تحت شرایط التهابی، BM-MSCs دارای نشانگر های مثبت به سمت اپی تلیوم معده مهاجرت می کنند و به سرطان معده متمایز می شوند، به علاوه نشانگر های مثبت می توانند در بافت های سرطانی به میزان زیادی دیده شوند. بنابراین، مطالعات نشان می دهند که گسترش سرطان معده به دلیل تمایز غیر طبیعی سلول های بنیادی مغز استخوان در طی باززایی و تعمیر موکوس معده می باشد.(۳۶) وارون و همکاران(۳۷) سلول های مشتق از مغز استخوان را با پروتئین فلوئورسنت سبز (GFP) نشان دار کردند و مشاهده

1. Tatemasta
2. Helicobacter felis



شکل ۱: طبقه بندی سلول های بنیادی براساس میزان پتانسیل تکثیری

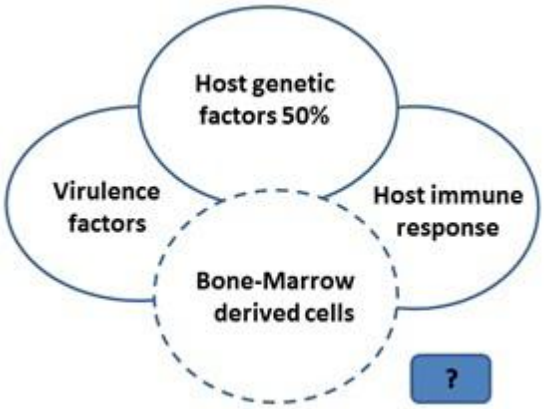


شکل ۲: مراحل سرطان زایی و ایجاد زخم معده توسط عفونت هلیکوباکترپیلوری

کردند که هلیکوباکترفلیس، التهاب مزمن، التهاب آتروفی، متاپلازی روده ای، هایپرپلازی غیرطبیعی و سرطان معده را القا کرده است. پروتئین فلوئورسنت سبز در ۹۰٪ از موش ها دیده شده بود و ۲۵٪ از سلول های سرطانی، از سلول های مشتق از مغز استخوان مشتق شده بودند. این یافته ها نشان می دهند که سلول های مشتق از مغز استخوان در گسترش سرطان معده دخالت کرده(۳۷) و سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان منشا سلول های سرطانی هستند. (شکل ۳)

نشانگر های زیستی و درمان سرطان معده

تهاجم سرطان، گسترش، مقاومت دارویی و متاستاز همگی مرتبط با سلول های بنیادی معده هستند، هدف گیری سلول های بنیادی سرطانی معده (GCSCs) در درمان سرطان مورد توجه زیاد قرار گرفته است.(۴۱-۳۸) $CD44^{+}$ یک مولکول چسبنده ی سطحی سلول و اولین نشانگری است که برای سلول های بنیادی معده شناخته شده است.(۴۱) سلول های



شکل ۳: فاکتور های درگیر در ایجاد سرطان معده

$CD44^+$ مقاومت دارویی زیادی دارند و ژن های زیادی را در رابطه با تهاجم سرطان بیان می کنند مثل MMP-۱، MMP-۲، EGFR و Cox-۲. (۴۲) سلول های بنیادی سرطانی معده به شدت CD44v9 را بیان می کنند، خاموشی بیان CD9v44 یک مسیر درمانی جدید برای درمان سرطان معده است.(۴۳) در مقایسه با سلول های $CD44^-$، سلول های $CD44^+$ بیان زیاد مسیر Notch را دارند. با داروی ویژه عنصر B که با بیان Notch مداخله دارد، تکثیر سلول های $CD44^+$ و زنوگرافت و بقا رگ همگی محدود می شوند.(۳۷،۴۴،۴۵) آبشار پیام رسانی STAT۳→ ERk CD۴۴ → موجب افزایش تکثیر سلول های بنیادی سرطانی معده می شود. تداخل با این آبشار پیام رسانی، تکثیر سلول های بنیادی معده را مهار می کند.(۴۶) مسیر پیام رسانی(SHH) Sonic hedgehog برای پایداری تومورزایی سلول های بنیادی بافت سرطانی ابتدایی ضروری است. تداخل با این مسیر پیام رسانی می تواند حساسیت سلول های بنیادی معده را با شیمی درمانی و بنابراین زنوگرافت را در موش های برهنه (nude mice) افزایش دهد.(۴۷) فسفوگلسیرات کیناز ۱ (PGK۱) در سلول های سرطانی معده فعال شده و تمایز سلول های بنیادی معده را مهار می کند. shRNA با مهار فسفوگلسیرات کیناز ۱ در سلول های $CD44^+$ تمایز سلول های بنیادی سرطانی معده را افزایش می دهد و رشد زنوگرافت را در موش های برهنه (mice nude) مهار می کند. القای مهار PGK۱ منجر به تمایز سلول های بنیادی سرطانی معده شده و به عنوان هدف برای درمان سرطان معده محسوب می شود.(۴۸) سلول های بنیادی مشتق از بافت ADIPOSE(بافت چربی) می توانند پروتئین سطحی متصل شونده به $CD44^+$ ($\alpha_2\beta_1$) و پیام رسانی Wnt را از طریق مولکول های چسبنده ی سطحی کنترل کنند و بنابراین حساسیت سلول های بنیادی سرطانی را به شیمی درمانی افزایش دهند. از این رو پیشنهاد می شود که سلول های بنیادی مشتق از بافت چربی می توانند به عنوان « سطح ناقل زنده » برای درمان سرطان معده استفاده شوند. هدف گیری بیان بیش از حد miR -۲۰۰ می تواند بیان TUBB۳ در تومور را خاموش کند، بیان CD۴۴ و مولکول E-کادهرین که مارکر تهاجمی است را کاهش دهد و رشد زنوگرافت را مهار کند.(۴۹) CD۱۳۳ و ALDH به عنوان مولکول های نشانگر سلول های بنیادی سرطانی معده هستند. بیان CD۱۳۳ به صورت قطعی با بدخیمی سرطان معده وابسته است. بیان بیش از حد ژن Sox۱۷ با خاموشی CD۱۳۳، گسترش سرطان معده را مهار می کند، از این رو تنظیم بیان CD۱۳۳ به عنوان یکی از اهداف درمانی برای درمان سرطان معده می تواند پیشنهاد گردد.(۵۰) ALDH ممکن است پیام رسانی Notch۱ و SHH را فعال کند و تکثیر سلول های بنیادی سرطانی معده را افزایش دهد که منجر به گسترش مقاوت دارویی می شود. تداخل با بیان ALDH و فعالیت آن و سیگنال های پایین دست می توانند به عنوان هدف برای درمان سرطان استفاده شوند.(۵۱) سلول های $CD71^-$ بسیار مهاجم بوده و از این رو این نشانگر می تواند به عنوان مدل مناسب برای مطالعه سلول های بنیادی سرطانی محسوب شود.(۵۲) TR۳ به عنوان یک گیرنده orphan و یک مولکول ضروری برای پایداری فعالیت سلول های بنیادی سرطانی معده محسوب می شود که خاموش سازی آن، بیان ژن های مربوط به سلول های بنیادی مثل Oct-۴ و Nanog و همچنین ژن مربوط به تهاجم MMP-۹ را کاهش می دهد و مهاجرت سلول های سرطانی، تهاجم، متاستاز، رشد زنوگرافت و مقاومت دارویی را مهار می کند. خاموش سازی TR۳ به عنوان یک هدف جدید برای درمان سلول های سرطانی معده است.(۵۳) Lrg۵، CD۲۶، Nanog، Sox۲، CD۵۴، Musashi-۱، CD۲۴ و Nestin به عنوان مولکول های نشانگر تشخیصی برای سلول های بنیادی سرطان معده در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) هستند.(۵۴-۵۷) اخیرا $Lrg5^+$ به عنوان نشانگر سلول های بنیادی آنتروم شناخته شده است. سلول های بنیادی $Lrg5^+$ در غده های آنتروم موجب بازسازی غده ها با تحریک کردن سلول های پیش ساز که در بخش میانی غده قرار گرفته اند می شود، این سلول ها با سرعت زیاد تقسیم و به سلول های اپی تلیال متمایز می شوند. هلیکوباکترپیلوری موجب افزایش شمار سلول ها از طریق افزایش تکثیر سلول بنیادی $Lrg5^+$ و بیان ژن های مربوط به سلول های بنیادی می شود.(۵۸،۵۹) سلول های SP پروتیین های مرتبط با مقاومت دارویی زیاد را بیان می کنند، شامل ABCG۲، Bcl-۲، مقاومت دارویی چندگانه و Bmi-۱ (۶۰و۶۱) علاوه بر این، تراستوزوماب (trastuzumab) به عنوان آنتی بادی مونوکلونال انسانی شناسایی شده است که به صورت انتخابی بر روی منطقه خارج سلولی گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال ۲ عمل می کند (HER۲)، تراستوزوماب عمدتا برای درمان سرطان معده با بیان بیش از حد HER۲ استفاده می شود.(۶۲و۶۳) راموسیروماب (Ramucirumab) یک آنتی بادی مونوکلونال IgG۱ انسانی جدید است که به عنوان گیرنده آنتاگونیست عمل می کند که به بخش خارج سلولی گیرنده فاکتور رشد اندوتلیال رگی ۲ (VEGF) متصل می شود، بنابراین موجب مسدود سازی میانکنش بین لیگاند های گیرنده VEGF یعنی A، C و D و مهار فعالیت گیرنده می

شود.(۶۴،۶۵)

آیا نانو دارو ها می توانند سلول های بنیادی سرطانی را بکشند؟

تومور ها بافت های ناهمگون و دارای جمعیت های سلولی متفاوت از نظر فنوتیپی و عملکرد هستند که هر کدام ظرفیت متفاوت برای رشد دارند.(۶۶) همبرگر[1] وسالمون[2]، دریافتند که فقط بخش کوچکی از سلول های توموری (سلول هایی که تکثیر بی رویه دارند.)، تومورزا هستند. (۶۷) این سلول های نادر در حقیقت سلول های بنیادی سرطانی هستند (CSCs) که ویژگی های مشابه زیادی با سلول های بنیادی طبیعی دارند، مثل خودنوزایی و تمایز. سلول های بنیادی سرطانی نقش اساسی در شروع، پیشرفت، مقاومت، عود و متاستاز در سرطان انتخاب شده ایفا می کنند. (۶۶،۶۸-۷۰) سلول های بنیادی سرطانی ذاتا ویژگی مقاومت دارویی دارند و معمولا فنوتیپ مشابه با سلول های دارای مقاومت چند دارویی (MRD) را نشان می دهند که شامل بیان ترانسپورترهای انتشار دارو به خارج(۷۱)، فعال سازی مسیر های پیام رسانی ضد آپوپتوز(۷۳ و ۷۲) و برنامه ی ریزی مجدد فرایند های متابولیکی می باشند.(۶۹) قابل توجه است که درمان با دارو های شیمی درمانی معمولا منجر به افزایش در میزان سلول های بنیادی سرطانی موجود در تومور می شود و از این رو احتمال نجات سلول ها و انتشار آن ها به نواحی دورتر را زیاد می کند.(جدول ۱)

تومور ها معمولا بعد از شیمی درمانی عود می کنند، که شیمی درمانی حجمی از سلول های توموری حساس تر را می کشد در حالیکه اجازه ی گریز سلول های بنیادی سرطانی مقاوم را می دهد. بنابراین سلول های بنیادی سرطانی کسر بزرگی از تومور های عود کرده یا باقیمانده را تشکیل می دهند. بر این اساس، درمان های شیمیایی که سلول های بنیادی سرطانی را هدف قرار دهند، ممکن است در درمان سرطان بسیار موفق باشند، هرچند که تومور ها انعطاف پذی از خودشان نشان می دهند و بنابراین از بین بردن و هدف قرار دادن سلول های بنیادی سرطانی بدون کشتن سلول های سرطانی دیگر (غیر سلول های بنیادی سرطانی) ممکن است به معالجه کامل منجر نشود. فنوتیپ سلول های بنیادی سرطانی می تواند دینامیک باشد، همانطور که تحت شرایط مشخص سلول های توموری غیر سلول های بنیادی سرطانی (non-CSCs) می توانند فنوتیپ خود را معکوس کنند و به سلول های بنیادی سرطانی (CSCs) تبدیل شوند. بنابراین درمان موفق باید هر دو حجم سلول های توموری و سلول های بنیادی سرطانی نادر را از میان بردارد.(شکل ۴) اگرچه برخی عوامل ضد سرطانی اخیرا شناسایی شده اند که با بازده بالا سلول های بنیادی سرطانی را می توانند از میان بردارند و شبیه به دارو های ضد سرطانی دیگر هستند، به هرحال اغلب آن ها محدودیت هایی را برای انتقال به مطالعات بالینی دارند، مثل تاثیر نابجا (off-target effect)، انحلال پذیری کم در آب و پایداری و توزیع زیستی نامطلوب. نانوتکنولوژی نقش مهمی را در گسترش داروها و سیستم های تحویل دارو ایفا می کند که می تواند آن محدودیت ها را کاهش

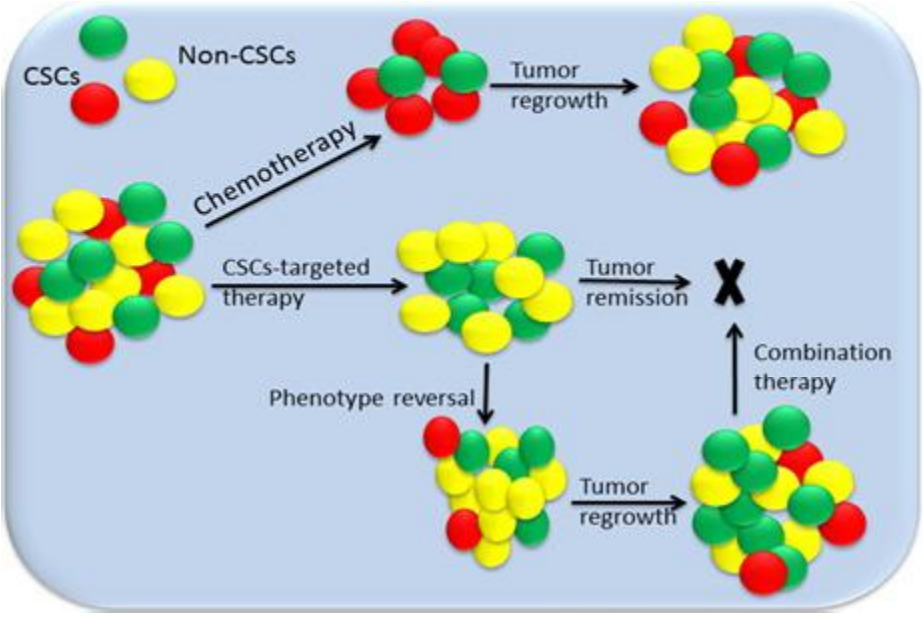
1. Hamberger
2. Salmon

جدول ۱: عوامل درمانی برای تومورهای دارای CSCs

Therapeutic agents or combination treatment	CSCs detection methods or biomarker
Paclitaxel	Tumor sphere assay, $CD44^+$ $CD24^-$
Cisplatin	$CD133^+$
Sunitinib and bevacizumab	$Aldeflor^+$, $ALDH1^+$
Combination therapy (FEC, FAC, CMF)	Tumorsphere assay, $CD44^+$ $CD24^-$
Paclitaxel, epirubicin	ALDH1+
Endocrine therapy (letrozol), Chemotherapy (docetaxel)	Tumorsphere assay, $CD44^+$ $CD24^-$

داده و نیز بازده تشخیص و درمان بیماری های مختلف را افزایش دهد.(۷۵ و ۷۴) انواع زیادی از حاملان براساس اجزای نانو وجود دارند که در سیستم های تحویل دارو استفاده می شوند مثل میسل های پلی مریک(۷۹-۷۶)، لیپوزوم ها (۸۲-۸۰)، دندریمر ها (۸۴و۸۳)، نانوامولسیون (۸۵)، طلا (۸۶و۸۷) یا اجزای نانو فلزی (۸۸) و غیره. در بازار بعضی محصولات براساس اجزای نانو (به نام دارو های نانو خوانده می شوند) برای درمان سرطان، تنظیم چربی، مالتیپل اسکلروزیس، عفونت های ویروسی و جلبکی وجود دارند (۸۹و۹۰) و برخی دیگر در مرحله ارزیابی بالینی و پیش بالینی می باشند. نانوتکنولوژی به خصوص در زمینه درمان سرطان، برای گسترش استفاده زیستی و کاهش سمیت سیستمیک عوامل ضد سرطان بکار رفته است. (۹۱و۹۲) مثال های موفق از دارو های نانوی تایید شده از نظر بالینی برای درمان سرطان عبارتند از: Liposomal doxorubicin ،albumin-bound paditaxel ،PEG-L-Asparaginase Oncaspar ،abraxane و عوامل دیگر. Doxil به عنوان اولین پلی اتیلن گلیکول (PEG) تغییر یافته و نانو داروی لیپوزومال است که توسط سازمان غذا و دارو (FAD) تایید شده است. (۹۵-۹۳)

در دو دهه ی اخیر مثال هایی از ایده های براساس نانوتکنولوژی برای مقابله با سلول های بنیادی سرطانی جمع آوری شده است.(۹۶و۹۷) به طور کلی، اجزای نانو برای هدف گیری سلول های بنیادی سرطانی در سه جهت به کار برده می شوند: ۱) همانند نشانگر برای برچسب دار کردن CSCs (۹۸،۹۹)، ۲) انتقال دهنده های نانو برای تحویل عوامل ضد CSCs به CSCs (۱۰۰،۱۰۱) و ۳) از میان بردن CSCs بدون آسیب به سلول های بنیادی طبیعی. اخیرا بعضی گروه ها با موفقیت نانو دارو ها را برضد سلول های بنیادی سرطانی به کار گرفته اند تا تومور را حذف کرده و از عود آن جلوگیری کنند (۱۰۲و۱۰۳) ، هرچند که هدف گیری سلول های ذکر شده به وسیله ی دارو های نانو به صورت یک چالش باقی مانده و امکان گسترش درمان های آینده را فراهم می کند. سلول های بنیادی سرطانی فنوتیپ های خاصی را که متفاوت از سلول های توموری دیگر است نشان می دهند و می توانند با بیان بیش از حد نشانگر های مشخص مثل $CD133^+$، $CD44^+$، $CD24^-$، آلدهیل دهیدروژناز ($ALDH^+$) و دیگر نشانگر ها قابل



شکل ۴: فروش های درمانی برای حذف تومور و نتایج متعاقب

شناسایی باشند. بیان بیش از حد این نشانگر ها در ارتباط با پیش بینی بیماری (در حد خیلی کم) در بیماران است.(۱۰۴و۱۰۵) استفاده از این نشانگر ها برای هدف گیری سلول های بنیادی سرطانی می تواند برخی محدودیت ها را دارا باشد. نخست اینکه نشانگر ها از یک نوع سرطان به نوع دیگر می توانند متفاوت باشند و هیچ نوع نشانگر عمومی وجود ندارد که بتواند مورد استفاده برای همه ی سرطان ها باشد،(۱۰۷و۱۰۸) دوم این که انواع چندگانه سلول های بنیادی سرطانی که از لحاظ بیولوژیکی متمایز هستند می توانند در یک تومور وجود داشته باشند، همانطور که در لوسمی میلوئیدی حاد(۱۰۸و۱۰۹) و نیز در تومور های جامد نشان داده شده است (۱۱۰) و سوم اینکه سلول های بنیادی سرطانی، الگوی بیان مشابه با سلول های بنیادی طبیعی را دارند، بنابراین خطر تاثیر بر سلول های بنیادی سالم در هنگام هدف گیری سلول های بنیادی سرطانی به وسیله ی شیمی درمانی وجود دارد. علاوه بر این، از آنجایی که فنوتیپ سلول های بنیادی سرطانی یک ویژگی پایدار نیست کشتن تنها CSCs ممکن است برای از بین بردن تومور ناکافی باشد. بنابراین چگونگی درمان موفق که توانایی حذف CSCs را دارا باشد، نیازمند درک گسترده از ویژگی های CSCs، مکانسیم های مرتبط (شکل ۴) و همچنین به کارگیری تکنولوژی های جدید برای تحویل دارو می باشد.

نتیجه گیری:

هلیکوباکترپیلوری به عنوان یک عامل بیماری زای انسانی شناسایی شده است که در ایجاد سرطان معده نقش دارد. شناخت این باکتری منجر به تمرکز بر روی عامل دیگری شده است که سلول های بنیادی (SCs) می باشند. در این مقاله ی مروری، چگونگی ایجاد سرطان معده توسط سلول های بنیادی، نشانگر های سطحی سلول های بنیادی سرطانی (CSCs) و نیز استفاده از درمان های ضد این سلول ها مورد بررسی قرار گرفتند. در واقع نظریه ی سلول های بنیادی سرطانی در حال پیشرفت است و حضور سلول های بنیادی سرطانی معده (GCSCs) و اهمیت آن ها مورد توجه قرار گرفته است. نشانگر های جدید تدریجا شناسایی شده و امکان درمان برای سرطان معده را فراهم می کنند. از این رو شناسایی و درک بیولوژی تومور و نیز ویژگی های سلول های بنیادی سرطانی، برای گسترش روش های درمانی موفق ضروری می باشد. پیچیدگی تومور، درک و گسترش مسیر های درمانی موثر را با مشکل مواجه می کند. از طرف دیگر، هر نوع سرطانی با سرطان دیگر متفاوت است و حتی در یک بیمار، مرحله ی اولیه تومور با مرحله ی متاستازی تفاوت دارد. بنابراین کشف و گسترش روش های درمانی ترکیبی مشخص ممکن است کلیدی برای درمان موفق باشد، هرچند که مطالعات در مورد سلول های بنیادی سرطانی معده نا کافی بوده و مطالعات بیشتری مورد نیاز می باشند.

به طور کلی سرطان تنها حوزه ای است که در آن تحقیقات روی ساختار و رفتار سلول های طبیعی و غیر طبیعی باید انجام گیرد. دانشمندان باید تا جایی که می توانند درباره ی چگونگی نمو و عملکرد سلول های طبیعی مطالعه کنند تا اینکه تفاوت های عمده ی سلول های سرطانی با سلول های سالم را مشخص کنند و راه هایی را برای متوقف کردن و پیشروی سرطان بیابند. اگر دانشمندان بتوانند تعداد زیادی سلول های بنیادی در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) ایجاد کنند، می توانند داروهایی را که قابلیت استفاده در درمان سرطان دارند را مورد بررسی قرار داده و به

آنالیز مسیر های ژنتیکی این سلول های غیر طبیعی بپردازند و چگونگی از بین رفتن سلول های سرطانی را بدون کشتن سلول های سالم فرد بیمار بیابند. به دلیل اینکه هر دو عامل هلیکوباکترپیلوری و سلول های بنیادی سرطانی در سرطان معده نقش دارند دانشمندان باید به دنبال راهی برای مقابله با هر دو عامل باشند.

واژه نامه

پلی مورفیسم (Polymorphism): چند شکلی یا چند ریختی، در ژنتیک به معنای تغییری رایج در رمز یا کد ژنتیکی موجود در DNA می باشد.

متاستاز (Metastasis): به فرایند گسترش سلول های سرطانی از جایگاه اولیه شان به مناطق دیگر در بدن اطلاق می شود.

هومئوستازی (Homeostasis): ویژگی از یک سامانه است که محیط داخلی خود را تنظیم می کند و تمایل به حفظ وضعیت ثابت و پایدار دارد.

آتروفی (Atrophy): به معنی تحلیل رفتگی یاخته یا بافت و یا عضوی که رشد بهنجار داشته است، در آتروفی تعداد یاخته ها تغییر نمی کند بلکه اندازه و محتویات آن ها کاهش می یابد.

هایپرپلازی (Hyperplasia): یا بیش رویش به معنی افزایش در تکثیر سلول و در نتیجه افزایش تعداد آن است.

مسیر Wnt: این مسیر در فرایند خودنوسازی سلول های بنیادی دخیل است.

مسیر Hedgehog (Hh): این مسیر در فرایند خودنوسازی سلول های بنیادی درگیر است.

shRNA یا short hairpin RNA: به عنوان ناقل بیان می باشد که ساختار سنجاق سری دارد.

miR یا microRNA: ریز آرایه ای می باشد که می تواند سرکوبگر تومور یا انکوژنیک باشد.

گیرنده Orphan: این گیرنده ساختاری شبیه به دیگر گیرنده ها دارد اما لیگاند خاصی برای اتصال به این گیرنده شناسایی نشده است.

آنتی بادی مونوکلونال (Monoclonal antibody): یا پادتن های تک گونه، پادتن هایی تک اختصاصی هستند که همه مشابه هم هستند چون از سلول های ایمنی مشخص که از یک سلول کلون شده اند، ایجاد شده اند، برخلاف پادتن های پلی کلونال که از سلول های ایمنی متفاوتی ایجاد می شوند، پادتن های مونو کلونال اتصال تک ظرفیتی دارند که به یک نوع اپی توپ متصل می شوند.

آنتاگونیست (Antagonist): در فارماکولوژی و بیوشیمی کاربرد دارد و نوعی لیگاند و ماده‌شیمیایی قابل پیوند با گیرنده ی سلولی و یا گونه‌ای دارو است که در سلول با اتصال به گیرنده‌های آن سلول عمل پیوند لیگاند-گیرنده را انجام داده ولی باعث هیچ‌گونه پاسخ و واکنش از سوی سلول نمی‌شود.

آپوپتوز(Apoptosis): به فرایند مرگ منظم و برنامه ریزی شده گفته می شود، این فرایند در سرکوب تومور نقش دارد که مهار آپوپتوز یک نشانه ی بارز سرطان محسوب می شود.

نشانگر زیستی (Biomarker): یک ویژگی ژنتیکی یا بیوشیمیایی که می تواند برای اندازه گیری پیشرفت بیماری یا تاثیر درمان استفاده گردد.

تمایز (Differentiation): تخصصی شدن یک سلول از نظر عملکرد که در نتیجه ی بیان گروه خاصی از ژن ها رخ می دهد.

تهاجم (Invasion): گسترش سلول های توموری به بافت اطراف.

موش های برهنه (Nude mice): موش هایی با نقص در سیستم ایمنی (معمولا بدون مو) هستند که به دلیل دارا نبودن غده ی تیموس فاقد سیستم ایمنی سلولی هستند. از این موش ها می توان به طور آزمایشگاهی برای رشد تومور های انسانی استفاده کرد.

زنوگرافت (Xenograft): انتقال بافت از یک گونه به گونه ای دیگر- یک مدل متداول زنوگرافت که در تحقیقات سرطان می شود انتقال سلول های توموری انسان به موش دارای نقص در سیستم ایمنی می باشد.

REFERENCES

1. Infection with Helicobacter pylori. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994;61:177-240.
2. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori. *Nature* 1997;388:539-47.
3. Akopyants NS, Clifton SW, Kersulyte D, Crabtree JE, Youree BE, Reece CA, et al. Analyses of the cag pathogenicity island of Helicobacter pylori. *Mol Microbiol* 1998;28:37-53.
4. Alm RA, Ling LS, Moir DT, King BL, Brown ED, Doig PC, et al. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen Helicobacter pylori. *Nature* 1999;397:176-80.
5. Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. cag, a pathogenicity island of Helicobacter pylori, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:14648-53.
6. Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of Helicobacter pylori. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995;270:17771-7.
7. Blaser MJ. Role of vacA and the cagA locus of Helicobacter pylori in human disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10 Suppl 1:73-7.
8. Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Boren T, Rad R, Schepp W, et al. Clinical relevance of the Helicobacter pylori gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:12778-83.
9. Siavoshi F, Asgharzadeh A, Ghadiri H, Massarrat S, Latifi-Navid S, Zamani M. Helicobacter pylori genotypes and types of gastritis in first-degree relatives of gastric cancer patients. *Int J Med Mi-*

crobiol 2011;301:506-12.
10. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:449-90.
11. Cover TL, Blaser MJ. Purification and characterization of the vacuolating toxin from Helicobacter pylori. *J Biol Chem* 1992;267:10570-5.
12. Hussein NR, Mohammadi M, Talebkhan Y, Doraghi M, Letley DP, Muhammad MK, et al. Differences in virulence markers between Helicobacter pylori strains from Iraq and those from Iran: potential importance of regional differences in H. pylori-associated disease. *J Clin Microbiol* 2008;46:1774-9.
13. Rhead JL, Letley DP, Mohammadi M, Hussein N, Mohagheghi MA, Eshagh Hosseini M, et al. A new Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer. *Gastroenterology* 2007;133:926-36.
14. Latifi-Navid S, Mohammadi S, Maleki P, Zahri S, Yazdanbod A, Siavoshi F, et al. Helicobacter pylori vacA d1/-i1 genotypes and geographic differentiation between high and low incidence areas of gastric cancer in Iran. *Arch Iran Med* 2013;16:330-7.
15. Helicobacter and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and Helicobacter pylori: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut* 2001;49:347-53.
16. Sadjadi A, Malekzadeh R, Derakhshan MH, Sepehr A, Nouraie M, Sotoudeh M, et al. Cancer occurrence in Ardabil: results of a population-based cancer registry from Iran. *Int J Cancer* 2003;107:113-8.
17. Haghighi P, Nasr K. Gastrointestinal cancer in Iran. *J Chronic Dis* 1971;24:625-33.
18. de Sablet T, Piazuelo MB, Shaffer CL, Schneider BG, Asim M, Chaturvedi R, et al. Phylogeographic origin of Helicobacter pylori is a determinant of gastric cancer risk. *Gut* 2011;60:1189-95.
19. Latifi-Navid S, Ghorashi SA, Siavoshi F, Linz B, Massarrat S, Khegay T, et al. Ethnic and geographic differentiation of Helicobacter pylori within Iran. *PLoS One* 2010;5:e9645.
20. Malekzadeh R, Derakhshan MH, Malekzadeh Z. Gastric cancer in Iran: epidemiology and risk factors. *Arch Iran Med* 2009;12:576-83.
21. Mousavi SM, Gouya MM, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. *Ann Oncol* 2009;20:556-63.
22. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001;414:105-11.
23. Shigdar S, Li Y, Bhattacharya S, O'Connor M, Pu C, Lin J, et al. Inflammation and cancer stem cells. *Cancer Lett* 2014;345:271-8.
24. Marchesi V. Breast cancer: Mutations in breast cancer stem cells correlate with metastases. *Nat Rev Clin Oncol* 2013;10:546.
25. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-76.
26. Hochedlinger K, Jaenisch R. Nuclear reprogramming and pluripotency. *Nature* 2006;441:1061-7.
27. Hambardzumyan D, Becher OJ, Holland EC. Cancer stem cells and survival pathways. *Cell Cycle* 2008;7:1371-8.
28. Blanpain C, Horsley V, Fuchs E. Epithelial stem cells: turning over new leaves. *Cell* 2007;128:445-58.
29. Bjerknes M, Cheng H. Multipotential stem cells in adult mouse gastric epithelium. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;283:G767-77.
30. Tatematsu M, Tsukamoto T, Inada K. Stem cells and gastric cancer: role of gastric and intestinal mixed intestinal metaplasia. *Cancer Sci* 2003;94:135-41.
31. Takaishi S, Okumura T, Wang TC. Gastric cancer stem cells. *J Clin Oncol* 2008;26:2876-82.
32. Borlongan CV, Glover LE, Tajiri N, Kaneko Y, Freeman TB. The great migration of bone marrow-derived stem cells toward the ischemic brain: therapeutic implications for stroke and other neurological disorders. *Prog Neurobiol* 2011;95:213-28.
33. Satija NK, Gurudutta GU, Sharma S, Afrin F, Gupta P, Verma YK, et al. Mesenchymal stem cells: molecular targets for tissue engineering. *Stem Cells Dev* 2007;16:7-23.
34. Kavanagh DP, Kalia N. Hematopoietic stem cell homing to injured tissues. *Stem Cell Rev* 2011;7:672-82.
35. Okumura T, Wang SS, Takaishi S, Tu SP, Ng V, Ericksen RE, et al. Identification of a bone marrow-derived mesenchymal progenitor cell subset that can contribute to the gastric epithelium. *Lab Invest* 2009;89:1410-22.
36. Houghton J, Stoicov C, Nomura S, Rogers AB, Carlson J, Li H, et al. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science* 2004;306-1568-71.
37. Varon C, Dubus P, Mazurier F, Asencio C, Chambonnier L, Ferrand J, et al. Helicobacter pylori infection recruits bone marrow-derived cells that participate in gastric preneoplasia in mice. *Gastroenterology* 2012;142:281-91.
38. Stojnev S, Krstic M, Ristic-Petrovic A, Stefanovic V, Hattori T. Gastric cancer stem cells: therapeutic targets. *Gastric Cancer* 2014;17:13-25.
39. Rocco A, Compare D, Nardone G. Cancer stem cell hypothesis and gastric carcinogenesis: Experimental evidence and unsolved questions. *World J Gastrointest Oncol* 2012;4:54-9.
40. Xu G, Shen J, Ou Yang X, Sasahara M, Su X. Cancer stem cells: the 'heartbeat' of gastric cancer. *J Gastroenterol* 2013;48:781-97.
41. Yang L, Levi E, Zhu S, Du J, Majumdar AP. Cancer stem cells biomarkers in gastric carcinogenesis. *J Gastrointest Cancer* 2013;44:428-35.
42. Yang L, Lai D. Ovarian cancer stem cells enrichment. *Methods Mol Biol* 2013;1049:337-45.
43. Jang BI, Li Y, Graham DY, Cen P. The Role of CD44 in the Pathogenesis, Diagnosis, and Therapy of Gastric Cancer. *Gut Liver* 2011;5:397-405.
44. Takaishi S, Okumura T, Tu S, Wang SS, Shibata W, Vigneshwaran R, et al. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells* 2009;27:1006-20.
45. Yan B, Zhou Y, Feng S, Lv C, Xiu L, Zhang Y, et al. beta -Elemene-Attenuated Tumor Angiogenesis by Targeting Notch-1 in Gastric Cancer Stem-Like Cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013;2013:268468.
46. Khurana SS, Riehl TE, Moore BD, Fassan M, Rugge M, Romero-Gallo J, et al. The hyaluronic acid receptor CD44 coordinates normal and metaplastic gastric epithelial progenitor cell prolifera-

tion. *J Biol Chem* 2013;288:16085-97.
47. Song Z, Yue W, Wei B, Wang N, Li T, Guan L, et al. Sonic hedgehog pathway is essential for maintenance of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *PLoS One* 2011;6:e17687.
48. Zieker D, Buhler S, Ustundag Z, Konigsrainer I, Manncke S, Bajaeifer K, et al. Induction of tumor stem cell differentiation--novel strategy to overcome therapy resistance in gastric cancer. *Langenbecks Arch Surg* 2013;398:603-8.
49. Liu Q, Li RT, Qian HQ, Wei J, Xie L, Shen J, et al. Targeted delivery of miR-200c/DOC to inhibit cancer stem cells and cancer cells by the gelatinases-stimuli nanoparticles. *Biomaterials* 2013;34:7191-7203.
50. Fukamachi H, Shimada S, Ito K, Ito Y, Yuasa Y. CD133 is a marker of gland-forming cells in gastric tumors and Sox17 is involved in its regulation. *Cancer Sci* 2011;102:1313-21.
51. Nishikawa S, Konno M, Hamabe A, Hasegawa S, Kano Y, Ohta K, et al. Aldehyde dehydrogenase high gastric cancer stem cells are resistant to chemotherapy. *Int J Oncol* 2013;42:1437-42.
52. Ohkuma M, Haraguchi N, Ishii H, Mimori K, Tanaka F, Kim HM, et al. Absence of CD71 transferrin receptor characterizes human gastric adenosquamous carcinoma stem cells. *Ann Surg Oncol* 2012;19:1357-64.
53. Zhan YY, He JP, Chen HZ, Wang WJ, Cai JC. Orphan receptor TR3 is essential for the maintenance of stem-like properties in gastric cancer cells. *Cancer Lett* 2013;329:37-44.
54. Wu C, Xie Y, Gao F, Wang Y, Guo Y, Tian H, et al. Lgr5 expression as stem cell marker in human gastric gland and its relatedness with other putative cancer stem cell markers. *Gene* 2013;525:18-25.
55. Chen T, Yang K, Yu J, Meng W, Yuan D, Bi F, et al. Identification and expansion of cancer stem cells in tumor tissues and peripheral blood derived from gastric adenocarcinoma patients. *Cell Res* 2012;22:248-58.
56. Zhi QM, Chen XH, Ji J, Zhang JN, Li JF, Cai Q, et al. Salinomycin can effectively kill ALDH(high) stem-like cells on gastric cancer. *Biomed Pharmacother* 2011;65:509-15.
57. Wang T, Ong CW, Shi J, Srivastava S, Yan B, Cheng CL, et al. Sequential expression of putative stem cell markers in gastric carcinogenesis. *Br J Cancer* 2011;105:658-65.
58. Sigal M, Rothenberg ME, Logan CY, Lee JY, Honaker RW, Cooper RL, et al. Helicobacter pylori Activates and Expands Lgr5(+) Stem Cells Through Direct Colonization of the Gastric Glands. *Gastroenterology* 2015;148:1392-1404 e1321.
59. Barker N, Huch M, Kujala P, van de Wetering M, Snippert HJ, van Es JH, et al. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. *Cell Stem Cell* 2010;6:25-36.
60. Chen S, Hou JH, Feng XY, Zhang XS, Zhou ZW, Yun JP, et al. Clinicopathologic significance of putative stem cell marker, CD44 and CD133, in human gastric carcinoma. *J Surg Oncol* 2013;107:799-806.
61. She JJ, Zhang PG, Wang X, Che XM, Wang ZM. Side population cells isolated from KATO III human gastric cancer cell line have cancer stem cell-like characteristics. *World J Gastroenterol* 2012;18:4610-7.
62. Ding X, Qu X, Fan Y, Che X, Qu J, Xu L, et al. Trastuzumab and oxaliplatin exhibit a synergistic antitumor effect in HER2-postive gastric cancer cells. *Anticancer Drugs* 2014;25:315-22.
63. Croxtall JD, McKeage K. Trastuzumab: in HER2-positive metastatic gastric cancer. *Drugs* 2010;70:2259-67.
64. Qiu MZ, Xu RH. The progress of targeted therapy in advanced gastric cancer. *Biomark Res* 2013;1:32.
65. Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, Dumitru F, Passalacqua R, Goswami C, et al. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2014;383:31-9.
66. Gupta PB, Chaffer CL, Weinberg RA. Cancer stem cells: mirage or reality? *Nat Med* 2009;15:1010-12.
67. Hamburger AW, Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science* 1977;197:461-3.
68. Clarke MF, Fuller M. Stem cells and cancer: two faces of eve. *Cell* 2006;124:1111-5.
69. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer* 2005;5:275-84.
70. Shackleton M, Quintana E, Fearon ER, Morrison SJ. Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution. *Cell* 2009;138:822-9.
71. Singh A, Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene* 2010 26;29:4741-51.
72. Zhao C, Chen A, Jamieson CH, Fereshteh M, Abrahamsson A, Blum J, et al. Hedgehog signalling is essential for maintenance of cancer stem cells in myeloid leukaemia. Nature 2009;458:776-9.
73. Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005;434:843-50.
74. Sahay G, Alakhova DY, Kabanov AV. Endocytosis of nanomedicines. *J Control Release* 2010;145:182-95.
75. Minko T. Drug targeting to the colon with lectins and neoglycoconjugates. *Adv Drug Deliv Rev* 2004;56:491-509.
76. Kabanov AV, Batrakova EV, Alakhov VY. Pluronic block copolymers for overcoming drug resistance in cancer. *Adv Drug Deliv Rev* 2002;54:759-79.
77. Batrakova EV, Kabanov AV. Pluronic block copolymers: evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. *J Control Release* 2008;130:98-106.
78. Bae Y, Kataoka K. Intelligent polymeric micelles from functional poly(ethylene glycol)-poly(amino acid) block copolymers. *Adv Drug Deliv Rev* 2009;61:768-84.
79. Kakizawa Y, Kataoka K. Block copolymer micelles for delivery of gene and related compounds. *Adv Drug Deliv Rev* 2002;54:203-22.
80. Torchilin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:145-60.
81. Tseng YC, Mozumdar S, Huang L. Lipid-based systemic delivery of siRNA. *Adv Drug Deliv Rev* 2009;61:721-31.
82. Li W, Szoka FC, Jr. Lipid-based nanoparticles for nucleic acid delivery. *Pharm Res* 2007;24:438-49.
83. Duncan R, Izzo L. Dendrimer biocompatibility and toxicity. A*dv Drug Deliv Rev* 2005;57:2215-37.

84. Nori A, Kopecek J. Intracellular targeting of polymer-bound drugs for cancer chemotherapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2005;57:609-36.
85. Constantinides PP, Chaubal MV, Shorr R. Advances in lipid nanodispersions for parenteral drug delivery and targeting. *Adv Drug Deliv Rev* 2008;60:757-67.
86. Rana S, Bajaj A, Mout R, Rotello VM. Monolayer coated gold nanoparticles for delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2012;64:200-16.
87. Ghosh P, Han G, De M, Kim CK, Rotello VM. Gold nanoparticles in delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2008;60:1307-15.
88. Sun C, Lee JS, Zhang M. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2008;60:1252-65.
89. Wagner V, Dullaart A, Bock AK, Zweck A. The emerging nanomedicine landscape. *Nat Biotechnol* 2006;24:1211-7.
90. Petros RA, DeSimone JM. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov* 2010;9:615-27.
91. Davis ME, Chen ZG, Shin DM. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:771-82.
92. Zamboni WC, Torchilin V, Patri AK, Hrkach J, Stern S, Lee R, et al. Best practices in cancer nanotechnology: perspective from NCI nanotechnology alliance. *Clin Cancer Res* 2012;18:3229-41.
93. Barenholz Y. Doxil(R)--the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J Control Release* 2012;160:117-34.
94. Gordon AN, Fleagle JT, Guthrie D, Parkin DE, Gore ME, Lacave AJ. Recurrent epithelial ovarian carcinoma: a randomized phase III study of pegylated liposomal doxorubicin versus topotecan. *J Clin Oncol* 2001;19:3312-22.
95. Gordon AN, Tonda M, Sun S, Rackoff W, Doxil Study I. Long-term survival advantage for women treated with pegylated liposomal doxorubicin compared with topotecan in a phase 3 randomized study of recurrent and refractory epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004;95:1-8.
96. Zeng C, Toole BP, Kinney SD, Kuo JW, Stamenkovic I. Inhibition of tumor growth in vivo by hyaluronan oligomers. *Int J Cancer* 1998;77:396-401.
97. Luo Y, Bernshaw NJ, Lu ZR, Kopecek J, Prestwich GD. Targeted delivery of doxorubicin by HPMA copolymer-hyaluronan bioconjugates. *Pharm Res* 2002;19:396-402.
98. Lee K, Drachev VP, Irudayaraj J. DNA-gold nanoparticle reversible networks grown on cell surface marker sites: application in diagnostics. *ACS Nano* 2011;5:2109-17.
99. Swaminathan SK, Roger E, Toti U, Niu L, Ohlfest JR, Panyam J. CD133-targeted paclitaxel delivery inhibits local tumor recurrence in a mouse model of breast cancer. *J Control Release* 2013;171:280-7.
100. Wei X, Senanayake TH, Warren G, Vinogradov SV. Hyaluronic acid-based nanogel-drug conjugates with enhanced anticancer activity designed for the targeting of CD44-positive and drug-resistant tumors. *Bioconjug Chem* 2013;24:658-68.
101. Xu Y, Chenna V, Hu C, Sun HX, Khan M, Bai H, et al. Polymeric nanoparticle-encapsulated hedgehog pathway inhibitor HPI-1 (NanoHHI) inhibits systemic metastases in an orthotopic model of human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012;18:1291-1302.
102. Liu Y, Lu WL, Guo J, Du J, Li T, Wu JW, et al. A potential target associated with both cancer and cancer stem cells: a combination therapy for eradication of breast cancer using vinorelbine stealthy liposomes plus parthenolide stealthy liposomes. *J Control Release* 2008;129:18-25.
103. Zhou Y, Yang J, Kopecek J. Selective inhibitory effect of HPMA copolymer-cyclopamine conjugate on prostate cancer stem cells. *Biomaterials* 2012;33:1863-72.
104. Monzani E, Facchetti F, Galmozzi E, Corsini E, Benetti A, Cavazzin C, et al. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumourigenic potential. *Eur J Cancer* 2007;43:935-46.
105. Rappa G, Fodstad O, Lorico A. The stem cell-associated antigen CD133 (Prominin-1) is a molecular therapeutic target for metastatic melanoma. *Stem Cells* 2008;26:3008-17.
106. Welte Y, Adjaye J, Lehrach HR, Regenbrecht CR. Cancer stem cells in solid tumors: elusive or illusive? *Cell Commun Signal* 2010;8:6.
107. Magee JA, Piskounova E, Morrison SJ. Cancer stem cells: impact, heterogeneity, and uncertainty. Cancer Cell 2012;21:283-96.
108. Gibbs KD, Jr., Jager A, Crespo O, Goltsev Y, Trejo A, Richard CE, et al. Decoupling of tumor-initiating activity from stable immunophenotype in HoxA9-Meis1-driven AML. *Cell Stem Cell* 2012;10:210-7.
109. Goardon N, Marchi E, Atzberger A, Quek L, Schuh A, Soneji S, et al. Coexistence of LMPP-like and GMP-like leukemia stem cells in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2011;19:138-52.
110. Dieter SM, Ball CR, Hoffmann CM, Nowrouzi A, Herbst F, Zavidij O, et al. Distinct types of tumor-initiating cells form human colon cancer tumors and metastases. *Cell Stem Cell* 2011;9:357-65.