

·特约综述·

## 靶向乳腺癌干细胞治疗的研究进展

赵蔚

(中山大学中山医学院, 广东 广州 510080)

**作者简介:**赵蔚,中山大学中山医学院教授。2004年和2009年于南京大学获学士和博士学位。2009年8月至2015年3月分别在美国贝勒医学院细胞与基因治疗中心和康奈尔大学威尔医学院附属卫理公会医院从事博士后研究。2015年通过中山大学“百人计划”和国家“千人计划青年项目”引进到中山大学。赵蔚教授主要从事细胞命运转变的表观遗传学调控机制的研究工作,在诱导性多能干细胞和肿瘤表观遗传调控等领域取得重要成果。迄今已在 Cell, Leukemia, Nature Communications, Angew Chem Int Ed 等国际权威学术期刊发表论文15篇。E-mail: zhaowei23@mail.sysu.edu.cn。



**摘要:**乳腺癌干细胞理论的确立为解释乳腺癌的表型和功能异质性提供理论基础。这些乳腺癌干细胞促始和驱动肿瘤生长,并与乳腺癌内在耐药密切相关。因此,乳腺癌干细胞的靶向治疗已成为基础研究及临床研究的热点。越来越多的证据显示,纳米粒子能通过靶向乳腺癌干细胞从而杀伤肿瘤,如靶向肿瘤干细胞特异或高表达表面标记(ALDH1, CD44和CD90),靶向肿瘤干细胞功能和干性维持相关的NOTCH, Hedgehog及TGF- $\beta$ 信号通路。本文概述了乳腺癌干细胞的特点,总结乳腺癌干细胞研究的现状,并对乳腺癌治疗中纳米技术的应用进行综述。另外,我们还对旨在通过抑制乳腺癌肿瘤细胞表观遗传重编程药物的研究进行总结。

**关键词:**乳腺癌干细胞;表观遗传调控;纳米给药载体;乳腺癌细胞重编程;表观遗传抑制剂

中图分类号:R73;Q2

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2017)05-0641-10

### Targeting Strategies for Breast Cancer Stem Cells: Current Status

ZHAO Wei

(Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Corresponding to: ZHAO Wei, E-mail: zhaowei23@mail.sysu.edu.cn

**Abstract:** The breast cancer stem cell theory provides a theoretical basis for explaining phenotypic and functional heterogeneity of breast cancer. These breast cancer stem cells (CSCs) promote tumor growth and are closely related to breast cancer intrinsic drug resistance. Therefore, targeted therapy of breast CSCs has become a hot area in basic and clinical research. There is growing evidence that nanoparticles can kill cancer by targeting breast CSCs, such as targeted tumor stem cell-specific expressed surface markers (ALDH1, CD44, and CD90), tumor stem cell stemness-related NOTCH, Hedgehog and TGF- $\beta$  signaling pathways. In this review, we summarized the characteristics and research status of breast CSCs, and the application of nanotechnology in the treatment of breast cancer. In addition, we also summarized the research status of epigenetic drugs aimed to restrain the reprogramming of breast cancer cells.

**Key words:** breast cancer stem cells; epigenetic regulation; nanoparticle; breast cancer epigenetic reprogramming; epigenetic inhibitor

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(5): 641-650]

目前乳腺癌的治疗仍然以切除为主,以放疗等为辅。化疗是乳腺癌治疗最重要也是效果最好的辅助手段。肿瘤细胞对化疗药物产生耐受常常最终阻碍了乳腺癌的治愈及增加了治疗后的复发几率。肿瘤细胞的自发耐受主要源于肿瘤内的异质性。乳腺癌肿瘤干细胞理论的提出解释了肿瘤内表型和功能异质性产生的原因。于是有人提出假设,开发特定针对乳腺癌干细胞的治疗方案可能提升肿瘤患者的生存和生活质量,特别是对于药物耐受的患者。此外,由于肿瘤细胞自身遗传或表观遗传的改变,肿瘤细胞也能改变其对药物的敏感性<sup>[1]</sup>。肿瘤细胞中高频的遗传或表观遗传变化产生基因表达的多样性,通过治疗过程中药物的筛选,导致获得性耐药的产生。因此,针对表观遗传调控机制如组蛋白修饰和DNA甲基化改变的方案,有望成为一个用于恢复肿瘤治疗敏感性的方案。研究人员设计了许多专门针对乳腺癌干细胞的治疗策略,但是却收效甚微<sup>[2]</sup>。近期有研究人员提出纳米材料能有效地靶向这类顽固细胞<sup>[3-5]</sup>。纳米粒疗法的治疗效果比单独使用药物好得多。最新文献报道了利用纳米粒子载干细胞信号通路抑制剂靶向乳腺癌干细胞的治疗策略。因此,本文将总结乳腺癌干细胞研究的现状,以及靶向乳腺癌干细胞的纳米药物的研究进展,并讨论潜在的乳腺癌干细胞表观遗传药物靶点。

## 1 乳腺癌干细胞理论和药物耐受

在乳腺癌干细胞理论或假说中,乳腺癌干细胞指肿瘤中存在的具有自我更新能力并能形成肿瘤异质性细胞谱系能力的细胞。这些细胞与乳腺癌复发与转移密切相关。最近,在小鼠肿瘤模型中的谱系追踪实验清楚表明,肿瘤干细胞是耐化疗药物和肿瘤复发的根源所在。因此,阐明肿瘤干细胞的起源无疑会使得我们更好理解肿瘤异质性,帮助开发针对肿瘤干细胞的治疗策略从而提升乳腺癌病人特别是发生乳腺癌肿瘤转移的病人的生存率和生活质量。

### 1.1 乳腺癌干细胞起源

乳腺癌干细胞的起源目前是有争议的,研究支持以下三种假说。

一种理论认为肿瘤干细胞可能起源于突变的正常乳腺干细胞,因为它们之间有非常多共同

点<sup>[6]</sup>。这两类细胞有相同的表面标志物,原始态(naive)表型,信号通路(Notch, Wnt, Hedgehog)以及肿瘤的归巢和迁移形式<sup>[7]</sup>。如果乳腺癌干细胞起源于成体组织中突变的正常乳腺干细胞,那么它们可以简单地利用现有的正常干细胞调控途径来促进自我更新。Bouras等<sup>[8]</sup>研究发现在小鼠乳腺干细胞群中敲除Notch通路调节因子Cbf-1后,干细胞可异常增生,形成异常结构,而最终向恶性转化。提示Notch信号通路可抑制乳腺干细胞增殖。Li等<sup>[9]</sup>研究发现,Wnt通路激活的MMTV-Wnt-1小鼠,带瘤乳腺中表面抗原1<sup>+</sup>(Scal<sup>+</sup>)祖细胞增多,高表达Wnt-1,暗示了激活的Wnt通路在促进Scal<sup>+</sup>祖细胞形成、促使乳腺干细胞异常增生及转化和最终导致乳腺癌发生中起一定程度的作用。Kubo等<sup>[10]</sup>研究发现,一些Hedgehog信号转导途径的主要成员,如Shh、Ptch1、Gli1和Gli2,在多数乳腺癌组织标本中高表达,而在邻近的正常乳腺组织中不表达或低表达,表明异常活化的Hedgehog途径在乳腺癌的发生发展中也可能具有一定作用。

另一种观点认为,在表观遗传改变,基因突变和环境因素的共同作用下,由正常干细胞分化的乳腺祖细胞或者进一步分化的增殖细胞能转化成乳腺癌干细胞。携带TGF- $\beta$ 转基因的乳腺上皮细胞增殖能力下降,它较成熟的干细胞能更好地抵抗致癌因素,表明乳腺癌的发生与乳腺癌CSC的增殖活性存在一定的关系。

还有一种理论认为,乳腺癌干细胞可能起源于突变的去分化的正常体细胞。乳腺癌研究中的一个关键问题是在特定的乳腺细胞谱系中的基因组损伤对于肿瘤异质性以及进展的影响。为了解决这一问题,Koren课题组<sup>[11]</sup>将PIK3CA(H1047R)突变基因插入到Lgr5<sup>+</sup>基底细胞(lineage-committed basal Lgr5<sup>+</sup>)和keratin-8<sup>+</sup>的管腔上皮细胞(luminal keratin-8<sup>+</sup> cell)中,结果显示这使得这些细胞去分化变成多能干细胞的状态(multipotent stem-like state),这一研究暗示在高度异质化的乳腺癌中也可能存在这一调控机制。Klevebring等<sup>[12]</sup>对乳腺癌干细胞和相应的原发性肿瘤样本的外显子测序,结果表明大多数的体细胞突变是乳腺癌干细胞与原发肿瘤的共同拥有的,这有助于我们理解肿瘤干细胞在乳腺癌异质性中的作用。总之,这些研究说明乳腺癌干细胞可以起源于非干细

胞。此外,最基本的一个问题是分化的细胞是否更容易受突变诱导从而去分化,以及其是如何影响肿瘤的发展和侵袭性的。所以接下来我们总结了细胞去分化和干性之间的动态关系,这能帮助我们更好理解乳腺癌的异质性和制定更好的临床治疗策略。

### 1.2 乳腺癌细胞的可塑性(plasticity)

目前尚未有肿瘤细胞可塑性的深入研究。根据传统的层次等级模型(hierarchical model),肿瘤干细胞被认为处于这种层级结构的最顶层,以单向的形式最终分化成非干肿瘤细胞<sup>[13]</sup>。然而,分化的肿瘤细胞也可通过一些调控机制如肿瘤壁龛信号(tumor niche signals)<sup>[14]</sup>、细胞间相互作用<sup>[15]</sup>和上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)<sup>[16]</sup>最终转化为肿瘤干细胞。乳腺癌细胞的可塑性在肿瘤细胞可塑性研究中相对更清晰。首先,乳腺癌中肿瘤细胞可在两种表型的转换中保持可塑性,这两种表型分别是:一种为增殖能力显著的上皮样状态(proliferative epithelial-like state, ALDH<sup>+</sup>);另一种为更加静止但富有侵略性的间质样状态(quiescent but invasive, mesenchymal-like state, CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>)。肿瘤干细胞在这两种状态中的转换受微环境和EMT调节子导致的表观遗传改变调控<sup>[17]</sup>。其次,乳腺癌中分化的大部分肿瘤细胞(the bulk tumor cells)能通过去分化转换成肿瘤干细胞。Guo等<sup>[18]</sup>证实,在分化的乳腺癌细胞中过表达转录因子SLUG和SOX9会导致这些细胞转化成干性细胞。

在乳腺癌研究中,越来越多证据显示EMT过程与肿瘤干细胞表型密切相关。EMT是一个高度保守的细胞过程,涉及正常的胚胎发生,组织修复和肿瘤进展,如肿瘤细胞的外渗、侵袭、迁移、治疗耐药和复发<sup>[19-20]</sup>。在该过程中,细胞开始表达关键多能有关基因,然后建立内源性的维持干细胞多能性的表达网络。而且,EMT过程是可逆转的,间质细胞也可以向上皮细胞转化(mesenchymal to epithelial transition, MET);一旦转化来的间质细胞到达适合他们生长和分化的目的组织和器官,它们便通过MET重新获得其上皮细胞的表型。有证据显示肿瘤干细胞是EMT过程的一种中间状态,其表达低水平的E-cadherin和显示低细胞极性<sup>[20]</sup>。除了丢失上皮相关特征外,肿瘤干细胞通常表现出间质相关的表型,比如黏附受体从

E-cadherin变为N-cadherin<sup>[21]</sup>,表达纤连蛋白(fibronectin)<sup>[22]</sup>,改变细胞骨架蛋白(表达vimentin和 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白),分泌金属基质蛋白酶<sup>[23]</sup>,重编程它们的信号通路模式及基因表达谱以使其获得迁移的能力,增加运动并侵入邻近组织的能力。

三类转录调节基因被确定为EMT调节因子:锌指E盒结合同源框(zinc finger E-box binding homeobox)成员ZEB1和ZEB2,锌指转录因子SNAIL超家族(SNAIL zinc finger family),螺旋-环-螺旋转录因子(helix-loop-helix transcription factors)TWIST家族。研究人员做了大量的工作去说明EMT调节因子和肿瘤干性之间分子联系。Morel等<sup>[24]</sup>在一个研究乳腺癌进展的模型上证明上皮细胞可以通过激活Ras-MAPK信号通路获得干性和致瘤性。在一个类似的研究中,有学者在非致瘤永生化的正常乳腺上皮细胞(human mammary epithelial cells, HMLE)异位表达任意的TWIST或者SNAIL转录因子,都能使得其发生EMT并最终获得间质细胞表型。他们还发现,这些发生EMT的大部分HMLE都是典型的代表乳腺癌肿瘤干细胞的CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>low</sup>表型,并且其成球能力显著上升<sup>[25-26]</sup>。

肿瘤细胞的可塑性也受肿瘤壁龛信号和细胞间相互作用的调控。一些研究表明低氧壁龛在促进乳腺干细胞池(breast stem cell pool)中扮演关键角色。并且,肿瘤干细胞和其壁龛之间的关系可能是双向的。肿瘤干细胞能重塑其微环境壁龛,使其具备促进肿瘤干细胞生存,干性维持和逃避化疗的能力<sup>[14]</sup>。一旦我们彻底了解了去分化是如何促进肿瘤干细胞的相关特性,我们就可以利用这些信息来设计更好的治疗方法。

### 1.3 乳腺癌肿瘤细胞去分化和体细胞重编程之间的共同点

诱导多能干细胞(iPSC)技术是一种高效的、易达到的、将分化细胞重编程到多能状态的技术<sup>[27]</sup>。重编程过程和肿瘤去分化之间存在许多共同点<sup>[28]</sup>。首先,尽管在特定的基因位点过早或不准确的重编程得到的细胞可能会在某些特定的实验中表现出多能表型,但是这些细胞仍然是不良的细胞,甚至是可以致瘤的细胞。其次,重编程因子(Oct4, Sox2, Klf4和c-Myc)在肿瘤发生发展中也扮演关键角色。比如Oct4,这个转录因子在囊胚和肿瘤细胞中均高表达,但是在正常组织中



低表达,而且其与原位癌的癌前病变密切相关<sup>[29]</sup>。Liu等<sup>[30]</sup>的研究发现Oct4蛋白在乳腺癌组织的表达显著高于癌旁组织,而Oct4基因沉默能抑制乳腺癌细胞的迁移及侵袭能力。Oct4沉默后上皮细胞标志物E-cadherin等上调;而间质细胞标志物vimentin等则下降。以上表明,Oct4蛋白在乳腺癌组织的表达明显增高;Oct4沉默可以显著抑制乳腺癌细胞的迁移及侵袭。最后,一些影响重编程的信号通路也参与到肿瘤形成中,如Wnt- $\beta$ -catenin信号通路。一些研究显示Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活与乳腺癌的发生发展有关<sup>[31]</sup>。

肿瘤特异iPSC的形成成为研究肿瘤干细胞提供很好的平台,也为预估肿瘤干细胞的潜能提供方法。在重编程后,多能性网络可以减少侵略性的癌症表型。这些细胞能随着再分化重新获得其原有的肿瘤表型。在重编程后,多能性网络可以减少侵略性的癌症表型。这些细胞能随着再分化重新获得其原有的肿瘤表型。在此基础上,Kumano等<sup>[32]</sup>报道,源自慢性髓细胞性白血病(CML)的iPSC能通过再分化有效地转化为造血细胞,并且依然对伊马替尼药物的敏感性,保持起始疾病的病理生理特征不变。同样的,Carette等<sup>[33]</sup>也获得了一个可以得到三胚层畸胎瘤的CML-iPSC细胞系。这个CML-iPSC细胞系失去了CML相关的表型,重新表达了造血细胞的表面标记CD45,干细胞表面标记CD34和T细胞表面标记CD43,说明其分化潜能得到恢复。然而,不像极度依赖BCR-ABL癌基因信号通路的敏感细胞系,失去了这种依赖的CML-iPSC细胞对BCR-ABL抑制剂伊马替尼药物耐受。Moore<sup>[34]</sup>和他的同事们建立了EWS-iPSC细胞,发现其甲基化修饰的层次聚类分析与ES细胞和iPSC细胞非常接近。但是,如果DNA甲基化的去除没有完成,EWS来源的iPSC只能部分被重编程。尽管这些克隆拥有许多典型的多能性指标和表型特征,研究人员仍然不能像正常非癌组织那样重编程出具有完全发展潜能的细胞。这到底是由于重编程方法的缺陷导致还是因为癌基因介导的某些表观遗传改变的封闭得来,目前仍然未知。此外,分化的肿瘤细胞能被重编程为早期的肿瘤,这能用发现的标记、信号通路和治疗方法确定。然后,这些多能细胞能再分化为不同的细胞,这些不同的细胞都继承有特殊的表观遗传标记或者称为“表观遗传记忆”(epigenetic

memory)。这些iPSC细胞更倾向于向其来源的那个谱系分化。总之,肿瘤是多因素和多过程的一个综合结果。因此,这个模型能在体外重现肿瘤形成的过程。

## 2 纳米技术应用于乳腺癌干细胞治疗的策略

乳腺癌干细胞对于传统的化疗和放疗以及之后的治疗高度耐受见诸很多报道。其机制受多种细胞过程调控,如进入静止期,增强DNA的损伤修复,快速药物排出(rapid drug efflux),表达抗凋亡蛋白,表达解毒酶。BCSC的放疗化疗抵抗形成干细胞的富集将成为癌恶性生物学行为的基础,影响着治疗的疗效及患者生存,因此如何消除乳腺癌肿瘤干细胞已经成为当前研究的热点。近期一种靶向乳腺癌干细胞的方法是应用分子导向纳米技术,其能有效的控制药物输送和释放。有早期的临床试验结果显示,纳米载体能特异靶向并杀死某些种类的肿瘤干细胞,这将从根本上改变癌症的临床治疗。纳米粒子能保证化疗药物维持高的浓度水平,直到被肿瘤干细胞吸收后才释放出来,这样就可以克服一些耐受的机制。高的目标选择性和内化性可以通过纳米粒子表面的靶向配体完成。

纳米材料能通过靶向乳腺癌干细胞表面特定的标记物(ALDH和CD44等)和维持肿瘤干细胞池相关的特定信号通路(Notch, Hedgehog, TGF- $\beta$ 和其他关键发育信号通路)从而抑制肿瘤干细胞。

### 2.1 乙醛脱氢酶(ALDH)

近期研究表明,在乳腺肿瘤中高水平的ALDH活性与强的致瘤性和化疗耐受密切相关。Li等<sup>[35]</sup>用纳米颗粒载低剂量的地西他滨就能提高乳腺癌干细胞对化疗的敏感性。这个纳米颗粒用生物可降解的MPEG-b-PLA制成,它能轻易地装载小分子药物如阿霉素(DOX)和地西他滨(NPDAC)。NPDAC用单一乳化方法制备,其平均直径为(88.8 $\pm$ 2.7)nm。NPDAC用双乳化法装载,得到狭窄的粒径分布[(79.8 $\pm$ 2.3)nm],DOX的载药量和包埋率分别为5.0%和51.8%。NPDAC的载药量和包埋率分别为1.0%和3.7%。体外实验表明,载低剂量地西他滨的纳米颗粒与NPDAC联

合处理显著降低MDA-MB-231微球中高ALDH活性的肿瘤干细胞比率,并且很好地克服了ALDH(hi)细胞的药物耐受。

## 2.2 CD44

受体CD44在肿瘤干细胞中高表达。它是一个信号平台,将细胞微环境信号与生长因子和细胞因子信号集合在一起。越来越多证据显示,CD44,特别是CD44V isoform,是肿瘤干细胞的表面标记物,并且在调节肿瘤干细胞特性中起重要作用,包括自我更新、肿瘤起始、转移和化疗耐受<sup>[36]</sup>。Aires等<sup>[37]</sup>成功地将最新的多功能氧化铁磁性纳米粒子(MNP)和anti-CD44抗体以及吉西他滨衍生物应用在一起,用于选择性处理CD44阳性肿瘤细胞。用CD44阴性非致瘤细胞系做对照,结果证实了MNP通过选择性药物输送有效杀死乳腺癌细胞系中CD44阳性细胞。MNP相比于其他纳米载药平台有两大优点,它们能通过高热杀死肿瘤细胞,并且还能作为核磁共振造影剂。

## 2.3 CD90

CD90是一个免疫球蛋白超家族的糖基磷脂酰肌醇锚定的膜糖蛋白<sup>[38]</sup>。它的功能与肿瘤致瘤活性相关,在肝细胞癌和骨肉瘤等它被确定为肿瘤干细胞的标记,而在乳腺癌中也被证实其与肿瘤的增殖跟恶性行为有关。在CD90阳性细胞中Notch信号通路被激活,当在该类细胞中抑制Notch信号通路会使得其致瘤能力,侵袭与迁移能力,以及干细胞相关基因的表达均下调。在CD90阴性细胞中激活Notch信号通路会导致自我更新,侵袭和迁移。而且,研究人员还发现,激活G1-S期的转化会刺激肿瘤干细胞的特征,而Notch信号通路会调控凋亡。Donnenberg等<sup>[39]</sup>的研究表明在人的乳腺肿瘤中存在一部分CD44+/CD90+的细胞。而Lobba等<sup>[40]</sup>的研究则提示CD90的表达跟肿瘤的恶性程度存在关联。

## 2.4 Notch信号通路

Notch信号通路是干细胞的关键调控信号通路,乳腺肿瘤中Notch信号存在异常的激活状态。它常常与侵袭性和逃避指标相关,因此其成为一个令人兴奋的治疗靶点。这条信号通路能被 $\gamma$ -分泌酶抑制剂(GSI)、抑制肽和抗体关闭。然而,Notch信号通路抑制剂的临床使用受到严重副作用的限制。因此,有研究人员通过偶联相应靶向配体和介孔二氧化硅纳米粒子再装载上GSI,

靶向Notch信号通路并释放GSI,杀伤肿瘤并产生最小的副作用<sup>[41]</sup>。最近的研究表明,抑制Notch信号通路能急剧抑制肿瘤干细胞的自我更新,克隆形成和肿瘤生成潜能<sup>[42]</sup>。Notch信号还可以导致ALDH1A1的去乙酰化从而促进乳腺肿瘤干细胞相关特性<sup>[43]</sup>。另外,目前关于Notch的研究主要关于Notch1,而Notch受体在不同肿瘤中表达差异暗示,不同的Notch受体所发挥的功能可能有所不同。

## 2.5 Hedgehog信号通路

Hedgehog信号通路在早期发育和再生中扮演关键角色。它也被认为是一个涉及细胞分化,生长和迁移的重要调节信号通路。Shh(sonic hedgehog)信号通路的组分的突变可导致包括乳腺癌在内的许多肿瘤的发生发展。Shh信号通路对于乳腺癌干细胞维持性的维持和自我更新的调控至关重要<sup>[44]</sup>。几乎目前可用于癌症治疗实验的Hh小分子抑制剂都是SMO的拮抗剂。然而,这些小分子抑制剂的临床应用主要受限于它们与SMO的结合能力有限和系统生物利用度差。Benvenuto等<sup>[45]</sup>报道SMO的拮抗剂GDC-0449通过靶向Shh信号通路在体内和体外均显著抑制乳腺癌的生长。

## 2.6 TGF- $\beta$ 信号通路

TGF- $\beta$ 信号通路是多种肿瘤的重要预后指标。TGF- $\beta$ 信号通路在一些肿瘤中的致瘤效应是证据确凿的,但是其在肿瘤干细胞中的潜在功能最近才见报道;选择性地靶向TGF- $\beta$ 信号通路可能是一种治疗一些肿瘤的有效策略。TGF- $\beta$ 信号通路抑制剂协同纳米药物输送系统可增强对于肿瘤的渗透和肿瘤干细胞的清除。Zuo等<sup>[46]</sup>构建聚阳离子纳米脂质载体,用双乳化法将siRNA包埋入纳米载体中,这个NPsiRNA可以持续地充分累积释放siRNA,将siRNA和TGF- $\beta$ R-1抑制剂LY364947联合使用;结果显示,这种治疗方案显著抑制肿瘤的生长且降低了肿瘤干细胞的比率。Meng<sup>[47]</sup>等开发了一种用聚乙烯亚胺/聚乙二醇包被的介孔二氧化硅纳米粒子(MSNP),使这种纳米粒子与小分子TGF- $\beta$ 抑制剂LY364947发生分子络合作用。由于MSNPs的高载药能力和pH依赖的LY364947释放,该平台促进在肿瘤部位的系统生物分布和保留。

总而言之,这些研究表明,对于术后复发和



化疗耐受的乳腺癌病人来说,各种各样的纳米载体通过靶向肿瘤干细胞特异表面标记和信号通路的方法可能是一种有效治疗策略。

### 3 靶向肿瘤干细胞药物的纳米输送平台

与传统化疗手段不同的是,纳米颗粒具备独特和多功能特性和多种多样的物理化学结构,以便其携带更高浓度的化疗药物,并在到达目的地被肿瘤干细胞吸收时才释放出来。在纳米颗粒表面加上靶向配体可以提高靶向的特异性以及内化性。为了适应体内复杂的环境,一个巨大多样性的纳米平台被开发出来,其可以包含不同的大小,结构,化学特性和生物功能组分。在下面的部分中,我们将总结目前科研中研究最为广泛的有机和无机纳米粒子。

#### 3.1 脂质体

脂质体被定义为由一个或多个同心磷脂层包裹水形成的球形聚合物囊泡。脂质体应用广泛,它可以携带疏水、亲水和两性分子,而且操作简便。

最近,以细胞膜表面核仁素在高致病的三阴性乳腺癌(TNBC)细胞中过表达为研究基础,Parvani等<sup>[48]</sup>报道了脂质体在乳腺癌方面的应用。他们开发出一种F3多肽靶向脂质体策略,基于在TNBC中与干性相关的核仁素高表达以及F3多肽靶向细胞表面核仁素,最终导致100%的肿瘤细胞死亡。这些发现表明,消除肿瘤干细胞的可塑性和适应性是可达到的。Ahmad等<sup>[49]</sup>开发了地塞米松(Dexamethasone)相关的脂质体策略,其选择性地与乳腺癌细胞的糖皮质激素受体作用从而释放药物。地塞米松是有效的糖皮质激素受体的合成配体。由于地塞米松在结构上与胆固醇类似,所以通过直接与胆固醇和阳离子脂质体整合形成地塞米松脂质体。合成的地塞米松脂质体还可以装载并输送抗癌药ESC8。结果显示,这个加载了双药物脂质体配方能增敏并杀死高侵袭性和药物耐受的乳腺癌肿瘤干细胞。

#### 3.2 胶束

胶束是有一个疏水核心和一个亲水核心的核壳结构纳米粒子,它是由脂质或其他两性分子在水介质中自我组装形成的,直径从20 nm到200 nm大小不等。

Gener<sup>[50]</sup>和他的同事们通过用ALDH1A1/tdTomato受体载体给乳腺癌干细胞一个持久的标签,用这个标签可以从异质的细胞群中鉴定并分离肿瘤干细胞。然后他们测定了PLGA-co-PEG聚合物胶束对紫杉醇的载药效率。在day 0时PLGA-co-PEG-PTX-CD44的MS、PI、ZP分别为 $(11.67 \pm 0.05)$  nm、0.037、 $(-5.62 \pm 0.41)$  mV,在day 60时为 $(8.52 \pm 0.08)$  nm、0.043、 $(-5.88 \pm 0.01)$  mV。透射电子显微图显示单分散球形胶束的平均直径与DLS获得的流体动力测量相关。稳定性分析证实,其能在乳腺癌细胞中携带CD44抗体和在结肠癌中携带西妥昔单抗直到第7天仍保持浓度不变。结果表明,特定地靶向细胞表面受体提升纳米药物的性能并使得肿瘤干细胞对紫杉醇化疗更敏感。

在另一项研究中,Krishnamurthy等<sup>[51]</sup>用PEG和功能性聚碳酸酯混合形成二嵌段共聚物,装载能消除肿瘤干细胞的苯乙双胍得到苯乙双胍胶束(Phen M)。Phen M能有效抑制肺癌肿瘤干细胞和非侧群细胞的生长。有趣的是,最近该小组进一步证实,Phen M与装载吉西他滨胶束(Gem M)联合使用表现出比它们分别单独使用更高的细胞毒性作用,并且对肝和肾脏没有毒理作用。同样地,用胶束载能杀伤肿瘤干细胞的甲硫哒嗪,然后与阿霉素联合用药,能根除乳腺癌细胞和对阿霉素耐受的乳腺癌干细胞<sup>[52]</sup>。

此外,胶束也可进行结构上和化学上的修饰以应答各种微环境的刺激,如pH催化载阿霉素胶束(DLMM)释放阿霉素,酸性环境(pH 4.0-6.0)加速药物释放。例如,Yu等<sup>[53]</sup>最近报道的用载siRNA和烷基化顺铂前体药物的pH应答三层胶束治疗转移性乳腺癌。这种pH敏感、稳定并且生物相容性好的纳米载体在肿瘤干细胞生物传感和治疗上应用广泛。

#### 3.3 聚合物纳米粒

聚合物纳米粒已经成为一个有价值的纳米技术平台,它控制、维持及靶向投送小分子和高分子抗肿瘤药物,如一些基因和蛋白质,是用于长期治疗最好的纳米粒子。

Chittasupho等<sup>[54]</sup>将CXCR4的拮抗剂LFC131装载入聚丙交酯乙交酯纳米粒(PLGA nanoparticles),随后包埋强力霉素(DOX)得到纳米药物LFC131-DOX-NPs,该纳米药物显著地抑制乳腺

癌细胞的增殖,诱导凋亡,并抑制 SDF-1A 对乳腺癌细胞的促转移作用。

### 3.4 金纳米粒子

金纳米粒子(AuNP)是由金原子自我组装而成的直径大小在 1 ~ 100 nm 的纳米粒子。近年来随着纳米科学和技术的发展,对黄金作为纳米级颗粒的合理利用进行了探讨和研究。

Sun 等<sup>[55]</sup>近期用不太相互作用的聚合物对金纳米粒子进行了表面修饰,开发了一种很好的阐释方法去理性地设计金纳米颗粒。通过聚乙二醇垫片的方式包埋阿霉素,而且这种酸不稳定的腺键能有效地将阿霉素投送到乳腺癌肿瘤干细胞。结果显示,这种 DOX-Hyd@AuNPs 高效地将阿霉素运输至肿瘤细胞并在细胞内释放出药物,最终降低肿瘤细胞的成球能力和肿瘤起始能力,在小鼠模型中显著抑制肿瘤的生长。

Atkinson 等<sup>[56]</sup>最近还发现,金纳米粒子加上放射导致的局部高温能根除放射耐受的乳腺癌干细胞。同时用同基因的老鼠和人三阴性乳腺癌异种移植模型,同一组结果表明,相比于大部分肿瘤细胞浓缩在肿瘤干细胞中的一群细胞对 6 gray 的电离辐射表现得更有弹性。相反,他们发现,在电离辐射后静脉注射光激活的金纳米并 42 °C 局部高温 20 min 后,肿瘤干细胞比例并没有随着肿瘤大小的减小而相应的增加。与空白对照加电离辐射相比,电离辐射加高热处理 48 h 后,肿瘤中的细胞致瘤性显著降低,同时分化表型的细胞也更多了。因此,他们证实金纳米壳层加放射消除了肿瘤干细胞,并且高热使得这群细胞对放疗更敏感。

## 4 表观遗传药物,乳腺癌干细胞靶点与纳米颗粒

表观遗传变化如 DNA 甲基化和组蛋白修饰的改变与正常干细胞和肿瘤干细胞的分化和去分化密切相关。与基因突变不同的是,表观遗传变化可以逆转因此利用表观遗传调节剂可以对表观遗传的异常变化进行逆转从而可能进行乳腺癌的治疗。执行不同功能的表观遗传调控因子可以分别被认为是“修饰因子”(writer)、“读取因子”(reader)和“去修饰因子”(eraser)<sup>[57]</sup>。大多数表观遗传药物都是靶向“修饰因子”和“去修饰因子”。

一些表观遗传修饰子的过表达已被证明可诱导乳腺癌干细胞的可塑性。比如 PRC2 (polycomb repressor complex2) 家族中的多梳蛋白 EZH2 已被证实在高级别的乳腺肿瘤中高表达且在调控干细胞自我更新和分化中起重要作用<sup>[58]</sup>。值得一提的是,纳米颗粒应该尽可能减少在体内血液循环时的药物释放,而通过内吞作用诱导药物的细胞内释放,从而确保这类表观遗传抑制剂的功效。

此外,表观遗传“修饰因子”的抑制剂可能是一种新的有效的治疗方案。DNA 甲基化是影响基因表观遗传的机制之一。抑癌基因的超甲基化与其转录沉默有关。地西他滨可通过抑制 DNA 甲基转移酶使肿瘤抑制基因恢复正常的去甲基状态而达到治疗乳腺癌的目的。用于治疗血液肿瘤的地西他滨已被证实对乳腺癌细胞具有很好的抑制作用。Borges 等<sup>[59]</sup>研究发现,在动物身上,药物地西他滨恢复与阻止癌浸润转移的基因 PRKD1 编码,抑制了肿瘤的生长,并且阻止了肿瘤细胞向肺脏的转移。但地西他滨用于临床乳腺癌治疗尚未见报道,且目前研究多关注于难治性乳腺癌的治疗,相关的剂量、疗程仍不确切,有望取得乳腺癌治疗的重大突破。

通过联合表观遗传药物和传统化疗药物用药,可能会有效地消除化疗耐受病人的肿瘤干细胞特性。例如,地西他滨(DAC)能增强病人的化疗应答并克服肿瘤干细胞的药物耐受。Li 等<sup>[35]</sup>报道纳米粒子载低剂量 DAC (NPDAC) 与载阿霉素的纳米粒子(NPDOX)联合使用能显著减少 MDA-MB-231 细胞微球中高 ALDH 活性的肿瘤干细胞群。在另一个近期研究中,Unland 等<sup>[60]</sup>证实 H3K27me3 甲基化酶 EZH2 的抑制剂,与表观遗传药物 5-Aza-CdR 和 SAHA 均有抗肿瘤的协同效应。而且,Matkar 等<sup>[61]</sup>还发现一条涉及 MLL2 的表观遗传信号通路,其对 HER2<sup>+</sup>细胞的生长非常关键,并且与肿瘤细胞对 HER2 抑制剂拉帕替尼敏感性相关。这些研究表明,用纳米载体载 MLL2 抑制剂联合拉帕替尼纳米药物可能对治疗转移性乳腺癌病人有效果。

## 5 缺点和未来前景

纳米技术为基础的药物、蛋白或核酸的乳腺

癌干细胞靶向输送策略被越来越多地使用。但是,纳米材料的一些技术难题仍未克服。

首先,靶向乳腺癌干细胞的方式是个棘手的问题,体外能靶向肿瘤干细胞的策略在体内实验中往往不能成功。由于无法接近整个肿瘤区以及肿瘤微环境的影响,在体内实验中往往不能达到肿瘤干细胞,或许使用对肿瘤微环境敏感的纳米粒子可以规避这个问题(例如pH值和氧化还原电位等)。此外,更重要的是去更好地理解肿瘤干细胞的关键特征,这样可以更好地去靶向它们。知道决定肿瘤干细胞命运的关键因素,能有效改变靶向它们的策略。

其次,肿瘤干细胞是一个相对较新的领域,目前暂时没有一个完美的鉴定和分离的标准。不同研究人员使用不同的细胞表面标记和生化试验来鉴定乳腺癌干细胞。然而急需标准化这套标准,这样才能加速对不同纳米平台治疗效果的筛选,从而克服肿瘤复发与转移的问题。

再次,不同的药物往往是单独被加载入纳米粒子中的,由于不同药物之间理化性质不同,所以将多种药物同时装载入纳米粒子是有困难的。因此,两种有协同作用的纳米药物可能不会真正到达同一个细胞,这会大大降低治疗效果。我们需要开发出能同时装载多种药物并且高载药量的多功能纳米粒子。

最后,纳米制剂对人体的毒性及长期影响需要更深入的研究,这样才能在临床上广泛推广使用。

## 6 总 结

靶向乳腺癌干细胞特异标记和信号通路的新式纳米治疗策略目前正在研究中。更好地理解肿瘤干细胞自我更新和肿瘤非干细胞重编程的表观遗传调控机制对于研究这种新式治疗策略是必要的。一旦理解了这些机制,会使我们发现新的治疗靶点并对目前治疗策略进行改进。基于大量的研究,我们推测靶向表观遗传的药物如甲基转移酶抑制剂吉西他滨如果与纳米技术相结合将会大大提升治疗效果。未来的纳米药物旨在为癌症患者提供更精准的治疗策略,朝着更高药物输送效率,更加靶向乳腺癌干细胞及更少副作用的方向前进。

## 参考文献

- [1] Zahreddine H, Borden KL. Mechanisms and insights into drug resistance in cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2013, 4: 28.
- [2] Krishnamurthy S, Ke X, Yang YY. Delivery of therapeutics using nanocarriers for targeting cancer cells and cancer stem cells [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2015, 10 (1): 143-160.
- [3] Abetov D, Mustapova Z, Saliev T. Novel small molecule inhibitors of cancer stem cell signaling pathways [J]. *Stem Cell Rev*, 2015, 11(6): 909-918.
- [4] Burke AR, Singh RN, Carroll DL. Targeting cancer stem cells with nanoparticle-enabled therapies [J]. *J Mol Biomark Diagn*, 2012, Suppl 8.
- [5] Hong IS, Jang GB, Lee HY, et al. Targeting cancer stem cells by using the nanoparticles [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10(Spec Iss): 251-260.
- [6] Kumar DH, Kutty MK. Review of stem cell deregulation and breast cancer: An emerging hypothesis [J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2012, 55(2): 147-153.
- [7] Vaz AP, Ponnusamy MP, Batra SK. Cancer stem cells and therapeutic targets: An emerging field for cancer treatment [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2013, 3 (2): 113-120.
- [8] Bouras T, Pal B, Vaillant F, et al. Notch signaling regulates mammary stem cell function and luminal cell-fate commitment [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(4): 429-441.
- [9] Li Y, Hively WP, Varmus HE. Use of MMTV-Wnt-1 transgenic mice for studying the genetic basis of breast cancer [J]. *Oncogene*, 2000, 19(8): 1002-1009.
- [10] Kubo M, Nakamura M, Tasaki A, et al. Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2004, 64 (17): 6071-6074.
- [11] Koren S, Reavie L, Couto JP, et al. PIK3CA (H1047R) induces multipotency and multi-lineage mammary tumours [J]. *Nature*, 2015, 525(7567): 114-118.
- [12] Klevebring D, Rosin G, Ma R, et al. Sequencing of breast cancer stem cell populations indicates a dynamic conversion between differentiation states in vivo [J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(4): R72-77.
- [13] Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, et al. Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(19): 7950-7955.
- [14] Pattabiraman DR, Weinberg RA. Tackling the cancer



- stem cells—what challenges do they pose? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(7): 497–512.
- [15] Kim J, Woo AJ, Chu J, et al. A Myc network accounts for similarities between embryonic stem and cancer cell transcription programs [J]. *Cell*, 2010, 143(2): 313–324.
- [16] Schieber MS, Chandel NS. ROS links glucose metabolism to breast cancer stem cell and EMT phenotype [J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(3): 265–267.
- [17] Brooks MD, Burness ML, Wicha MS. Therapeutic implications of cellular heterogeneity and plasticity in breast cancer [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(3): 260–271.
- [18] Guo W, Keckesova Z, Donaher JL, et al. Slug and Sox9 cooperatively determine the mammary stem cell state [J]. *Cell*, 2012, 148(5): 1015–1028.
- [19] Liu X, Fan D. The epithelial–mesenchymal transition and cancer stem cells: Functional and mechanistic links [J]. *Curr Pharm Des*, 2015, 21(10): 1279–1291.
- [20] Ye X, Tam WL, Shibue T, et al. Distinct EMT programs control normal mammary stem cells and tumour-initiating cells [J]. *Nature*, 2015, 525(7568): 256–260.
- [21] Mohamet L, Hawkins K, Ward CM. Loss of function of e-cadherin in embryonic stem cells and the relevance to models of tumorigenesis [J]. *J Oncol*, 2011, 2011: 352616.
- [22] Li WG, Xu XX. The expression of N-cadherin, fibronectin during chondrogenic differentiation of MSC induced by TGF- $\beta$ (1) [J]. *Chin J Traumatol*, 2005, 8(6): 349–351.
- [23] Tang JQ, Fan Q, Wu WH, et al. Extrahepatic synthesis of coagulation factor VII by colorectal cancer cells promotes tumor invasion and metastasis [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123(24): 3559–3365.
- [24] Morel AP, Lievre M, Thomas C, et al. Generation of breast cancer stem cells through epithelial–mesenchymal transition [J]. *PLoS One*, 2008, 3(8): e2888.
- [25] Mani SA, Yang J, Brooks M, et al. Mesenchyme Forkhead 1 (FOXC2) plays a key role in metastasis and is associated with aggressive basal–like breast cancers [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(24): 10069–10074.
- [26] Malouf GG, Taube JH, Lu Y, et al. Architecture of epigenetic reprogramming following Twist1–mediated epithelial–mesenchymal transition [J]. *Genome Biol*, 2013, 14(12): R144–166.
- [27] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663–676.
- [28] Semi K, Matsuda Y, Ohnishi K, et al. Cellular reprogramming and cancer development [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(6): 1240–1248.
- [29] Vazquez–Martin A, Lopez–Bonet E, Cufi S, et al. Repositioning chloroquine and metformin to eliminate cancer stem cell traits in pre–malignant lesions [J]. *Drug Resist Updat*, 2011, 14(4–5): 212–223.
- [30] Liu T, Sun B, Zhao XL, et al. OCT4 expression and vasculogenic mimicry formation positively correlate with poor prognosis in human breast cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(11): 19634–19649.
- [31] Lindvall C, Bu W, Williams BO, et al. Wnt signaling, stem cells, and the cellular origin of breast cancer [J]. *Stem Cell Rev*, 2007, 3(2): 157–168.
- [32] Kumano K, Arai S, Hosoi M, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples [J]. *Blood*, 2012, 119(26): 6234–6242.
- [33] Carette JE, Pruszk J, Varadarajan M, et al. Generation of iPSCs from cultured human malignant cells [J]. *Blood*, 2010, 115(20): 4039–4042.
- [34] Moore JB, Loeb DM, Hon KU, et al. Epigenetic reprogramming and re–differentiation of a Ewing sarcoma cell line [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2015, 3: 15–19.
- [35] Li SY, Sun R, Wang HX, et al. Combination therapy with epigenetic–targeted and chemotherapeutic drugs delivered by nanoparticles to enhance the chemotherapy response and overcome resistance by breast cancer stem cells [J]. *J Control Release*, 2015, 205: 7–14.
- [36] Yan Y, Zuo X, Wei D. Concise review: Emerging role of CD44 in cancer stem cells: a promising biomarker and therapeutic target [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(9): 1033–1043.
- [37] Aires A, Ocampo SM, Simoes BM, et al. Multifunctionalized iron oxide nanoparticles for selective drug delivery to CD44–positive cancer cells [J]. *Nanotechnology*, 2016, 27(6): 065103.
- [38] Haeryfar SM, Conrad DM, Musgrave BL, et al. Antibody blockade of Thy–1 (CD90) impairs mouse cytotoxic T lymphocyte induction by anti–CD3 monoclonal antibody [J]. *Immunol Cell Biol*, 2005, 83(4): 352–363.
- [39] Donnenberg VS, Donnenberg AD, Zimmerlin L, et al. Localization of CD44 and CD90 positive cells to the invasive front of breast tumors [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2010, 78(5): 287–301.
- [40] Lobba ARM, Fomi M, Carreira ACO, et al. Differential expression of CD90 and CD14 stem cell markers in malignant breast cancer cell lines [J]. *Cytometry A*,

- 2012, 81(12):1084-1091.
- [41] Chenna V, Hu CX, Pramanik D, et al. A polymeric nanoparticle encapsulated small-molecule inhibitor of Hedgehog signaling (NanoHHI) bypasses secondary mutational resistance to Smoothed antagonists [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(1): 165-173.
- [42] D'Angelo RC, Ouzounova M, Davis A, et al. Notch reporter activity in breast cancer cell lines identifies a subset of cells with stem cell activity [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(3): 779-787.
- [43] Zhao D, Mo Y, Li MT, et al. NOTCH-induced aldehyde dehydrogenase 1A1 deacetylation promotes breast cancer stem cells [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(12): 5453-5465.
- [44] Tanaka H, Nakamura M, Kameda C, et al. The Hedgehog signaling pathway plays an essential role in maintaining the CD44+ CD24-/low subpopulation and the side population of breast cancer cells [J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(6): 2147-2157.
- [45] Benvenuto M, Masuelli L, De Smaele E, et al. In vitro and in vivo inhibition of breast cancer cell growth by targeting the Hedgehog/GLI pathway with SMO (GDC-0449) or GLI (GANT-61) inhibitors [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(8): 9250-9570.
- [46] Zuo ZQ, Chen KG, Yu, XY, et al. Promoting tumor penetration of nanoparticles for cancer stem cell therapy by TGF-beta signaling pathway inhibition [J]. *Biomaterials*, 2016, 82:48-59.
- [47] Meng H, Zhao Y, Dong JY, et al. Two-wave nanotherapy to target the stroma and optimize gemcitabine delivery to a human pancreatic cancer model in mice [J]. *ACS Nano*, 2013, 7(11): 10048-10065.
- [48] Parvani JG, Gujrati MD, Mack MA, et al. Silencing beta3 integrin by targeted ECO/siRNA nanoparticles inhibits EMT and metastasis of triple-negative breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(11): 2316-2325.
- [49] Ahmad A, Mondal SK, Mukhopadhyay D, et al. Development of liposomal formulation for delivering anticancer drug to breast cancer stem-cell-like cells and its pharmacokinetics in an animal model [J]. *Mol Pharm*, 2016, 13(3): 1081-1088.
- [50] Gener P, Gouveia LP, Romero SG, et al. Fluorescent CSC models evidence that targeted nanomedicines improve treatment sensitivity of breast and colon cancer stem cells [J]. *Nanomedicine*, 2015, 11(8):1883-1892.
- [51] Krishnamurthy S, Ng Victor WL, Gao SJ, et al. Code-delivery of dual drugs from polymeric micelles for simultaneous targeting of both cancer cells and cancer stem cells [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2015, 10(18):2819-2832.
- [52] Ke XY, Ng Victor WL, Gao SJ, et al. Co-delivery of thioridazine and doxorubicin using polymeric micelles for targeting both cancer cells and cancer stem cells [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(3): 1096-1108.
- [53] Yu HJ, Guo CY, Feng B, et al. Triple-layered pH-responsive micelleplexes loaded with siRNA and cisplatin prodrug for NF-kappa B targeted treatment of metastatic breast cancer [J]. *Theranostics*, 2016, 6(1):14-27.
- [54] Chittasupho C, Kewsuwan P, Murakami T. CXCR4-targeted nanoparticles reduce cell viability, induce apoptosis and inhibit SDF-1alpha induced BT-549-Luc cell migration in vitro [J]. *Curr Drug Deliv*, 2017, Feb16. doi:10.2174/15672018146666170216130448.
- [55] Sun TM, Wang YC, Wang F, et al. Cancer stem cell therapy using doxorubicin conjugated to gold nanoparticles via hydrazone bonds [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(2):836-845.
- [56] Atkinson RL, Zhang M, Diagaradjane P, et al. Thermal enhancement with optically activated gold nanoshells sensitizes breast cancer stem cells to radiation therapy [J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2(55): 55ra79.
- [57] Schneckenger M, Florean C, Grandjettete C, et al. Novel pharmaceutical approaches by natural compound-derived epigenetic regulators: epigenetic readers, writers and erasers as therapeutic targets [J]. *Curr Top Med Chem*, 2016, 16(7):677-679.
- [58] Chang CJ, Yang JY, Xia WY, et al. EZH2 promotes expansion of breast tumor initiating cells through activation of RAF1-beta-catenin signaling [J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(1):86-100.
- [59] Borges S, Doeppler H, Perez EA, et al. A Pharmacologic reversion of epigenetic silencing of the PRKD1 promoter blocks breast tumor cell invasion and metastasis [J]. *Breast Cancer Res*, 2013, 15(2):R66-78.
- [60] Unland R, Borchardt C, Clemens D, et al. Analysis of the antiproliferative effects of 3-deazaneoplanocin A in combination with standard anticancer agents in rhabdoid tumor cell lines [J]. *Anticancer Drugs*, 2015, 26(3):301-311.
- [61] Matkar S, Sharma P, Gao S, et al. An epigenetic pathway regulates sensitivity of breast cancer cells to HER2 inhibition via FOXO/c-Myc Axis [J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(4):472-485.

(编辑 孙慧兰)