

เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง: ทักษะการประยุกต์ใช้ในโรคมะเร็ง

วิยะดา ปัญจรัก^{1,2}

¹ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²มหาวิทยาลัยขอนแก่น, กลุ่มวิจัยมะเร็งแบบองค์รวม

Cancer Stem Cells: Perspective Application in Cancer

Wiyada Punjaruk^{1,2}

¹Department of Physiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

²Khon Kaen University, Comprehensive Cancer Research Group (KKU CCRG)

มะเร็งประกอบไปด้วยประชากรหลากหลาย (heterogeneity) ประชากรส่วนใหญ่ของมะเร็งมีความไวต่อการรักษาดั้งเดิม ด้วยยาเคมีบำบัดหรือการฉายแสง แต่มีประชากรส่วนน้อยคือ เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง (cancer stem cells) ที่มีคุณสมบัติจำเพาะที่เหนือกว่าในการเจริญเติบโตที่ทำให้เกิดการดื้อยาหลายชนิด (multidrug resistance) และสามารถรอดชีวิตจากการรักษามะเร็งด้วยวิธีดั้งเดิม ดังนั้น ในการตั้งเป้าในการรักษามะเร็งให้หายขาด จำเป็นจะต้องมุ่งเป้าในการกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง ซึ่งจะต้องมีการศึกษาวิธีการที่จะระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งได้อย่างแม่นยำและจำเพาะ ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีข้อสรุปชัดเจนถึงวิธีการในการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่ดีและจำเพาะที่สามารถใช้ในการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งในมะเร็งทุกชนิด การดื้อยาจากการรักษาด้วยวิธีดั้งเดิมนั้นเกิดจากเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งมีกลไกที่ทำให้เกิดการดื้อยา ซึ่งอาจจะไม่ใช่เพียงกลไกเดียวอาจจะหลายกลไกที่มีในเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง เช่น key signaling pathways (Wnt signaling pathway, Hedgehog pathway และ Notch signaling pathway เป็นต้น) การมี adenosine triphosphate (ATP) binding cassette (ABC) transporters ช่วยการปั๊มยาออกจากเซลล์ การมี microenvironment niche ที่ส่งเสริมและช่วยให้เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งมีชีวิตรอด และต่อการรักษา ดังนั้น ในการที่จะมุ่งเป้าในการกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งจำเป็นต้องศึกษาถึงกลไกที่สำคัญที่เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งทำให้เกิดการดื้อยา แล้วทำการพัฒนาปรับปรุงในการยับยั้งกลไกเหล่านั้นแล้วมะเร็งก็อาจจะเป็นโรคที่สามารถรักษาให้หายได้ในอนาคต

Cancer mass comprises heterogeneous population. The majority of cancer population is vulnerable to chemotherapeutic agents and radiotherapy whilst the small population, cancer stem cells, having specific capacity of growth advantages results in multidrug resistance and survival from conventional therapies. Therefore, cancer stem cells should be targeted in cancer treatment to cure malignant disease. Characterisation and identification should be extensively studied to specifically and accurately identify these population. Additional, identification of cancer stem cells should universally indicate these population of all cancer types. Multidrug resistance of cancer stem cells to conventional therapies results from not only one mechanism but it can possibly cause from severe drug resistance mechanisms such as key signalling pathways (Wnt signaling pathway, Hedgehog pathway and Notch signaling pathway), ABC transporters effluxing chemotherapeutic agents out of cells and microenvironment niche helping cancer stem cells to survive and resist to treatment. Hence, the principal drug resistance mechanism of cancer stem cells should be intensively studied to effectively target these population resulting in cure treatment of malignant diseases. Additionally, drug resistance mechanisms require further studies to develop and improve treatment of cancer. Hopefully, malignant diseases are curable in the future.

ศรีนครินทร์เวชสาร 2558; 30 (2): 164-174. ♦ Srinagarind Med J 2015; 30 (2): 164-174.

บทนำ

ความรู้ในปัจจุบันนี้ ทำให้ทราบว่า เซลล์ต่างๆ ภายในร่างกายของมนุษย์มีจุดกำเนิดมาจากเซลล์ชนิดหนึ่งที่เรียกว่า เซลล์ต้นกำเนิด หรือ สเต็มเซลล์ (stem cells) ซึ่งเซลล์เหล่านี้มีลักษณะจำเพาะที่แตกต่างจากเซลล์ธรรมดาทั่วไป^{1,2} โดยปกติแล้ว เซลล์ปกติทั่วไปจะสามารถแบ่งตัวได้อย่างจำกัดจึงทำให้เซลล์แต่ละชนิดมีอายุอยู่ได้จำกัด แล้วเซลล์เหล่านั้นก็จะเข้าสู่กระบวนการอะพอพโทซิส (apoptosis) ในทางตรงกันข้าม สเต็มเซลล์จะมีความสามารถในการแบ่งตัวเจริญเติบโตได้อย่างไม่จำกัด (unlimited proliferation capacity) ทำให้เซลล์เหล่านี้มีชีวิตอมตะ (immortal life) นอกจากนี้ สเต็มเซลล์ยังมีความสามารถในการแบ่งตัวแล้วได้เซลล์ที่มีคุณสมบัติเหมือนตัวเอง (self-renewal ability) คือ สามารถรักษาคุณสมบัติของความเป็นสเต็มเซลล์ได้ และเซลล์เหล่านี้ยังมีความสามารถในการแบ่งตัวได้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ ที่มีหน้าที่แตกต่างกันได้มากมายหลายชนิด (multilineage differentiation potential)^{2,3} ดังนั้น สเต็มเซลล์เหล่านี้จึงมีความสำคัญอย่างมากในการเป็นแหล่งสำหรับการสร้างเซลล์มาทดแทนเซลล์ต่างๆ ภายในร่างกาย อย่างไรก็ตาม จำนวนของสเต็มเซลล์จะมีจำนวนลดลงเมื่อมนุษย์มีอายุมากขึ้น โดยแหล่งที่พบว่ามีสเต็มเซลล์อยู่ในผู้ใหญ่ที่มักจะสกัดสเต็มเซลล์ได้แก่ ไขกระดูก (bone marrow)⁴ และ เลือด (peripheral blood)⁵ นอกจากนี้ยังมีแหล่งอื่นที่สามารถสกัดสเต็มเซลล์ออกมาได้ เช่น กระดูก (bone)⁶ น้ำหล่อลื่นภายในข้อ (synovium)⁷ ฟัน (deciduous teeth)⁸ เซลล์ไขมัน (adipose tissues)⁹ สมอง (brain)¹⁰ และเลือดจากสายสะดือ (umbilical cord blood)¹¹ จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่ามีปริมาณสเต็มเซลล์อยู่ในสัดส่วนน้อยมาก ขณะที่สัดส่วนของสเต็มเซลล์ ยังไม่มีหลักฐานแน่ชัด แต่จากการศึกษาที่ผ่านมา มีสัดส่วนประมาณร้อยละ 1-4 เท่านั้นเอง¹²

ปัจจุบัน เป็นที่ทราบกันว่ามะเร็งประกอบไปด้วยประชากรหลากหลายชนิด (heterogeneity) และมีเพียงประชากรมะเร็งส่วนน้อยเท่านั้น (subpopulation) ที่มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อการรักษาหรือมีอิทธิพลในการทำให้เกิดการกลับมาเป็นโรคอีกครั้งของมะเร็ง¹³ ซึ่งประชากรส่วนน้อยนี้ ในภายหลังได้ถูกเรียกว่าเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง (cancer stem cells หรือ cancer initiating cells) ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งนี้จะมีลักษณะจำเพาะประกอบไปด้วยความสามารถในการแบ่งตัวเจริญเติบโตได้อย่างไม่จำกัด (infinite proliferative capacity) สามารถแบ่งตัวเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ต่างๆ ได้มากมายหลายชนิด (multilineage differentiation potential) รวมถึงความสามารถในการแบ่งตัว แล้วได้เซลล์ที่มีคุณสมบัติเหมือนตัวเอง (self-renewal ability) ซึ่งคุณสมบัติจำเพาะที่

กล่าวไปนี้จะเหมือนกับสเต็มเซลล์ปกติ (normal stem cells) แต่เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งจะมีคุณสมบัติที่ต่างออกไป คือสามารถส่งเสริมให้เกิดเป็นก้อนมะเร็งขึ้นใหม่ (tumor formation) ทำให้เกิดการพัฒนาก้าวหน้าของโรค (progression) และทำให้เกิดการกระจายไปที่อื่น (metastasis)¹⁴ อย่างไรก็ตาม เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งเป็นเซลล์ที่มีความผิดปกติทำให้ขาดการควบคุมปริมาณและสัดส่วนของเซลล์ที่เหมาะสม จึงก่อให้เกิดเป็นก้อนมะเร็งที่ไม่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งอย่างแพร่หลายในหลายๆ แง่มุมเพื่อที่จะเพิ่มการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดและการฉายรังสีเพื่อให้พยากรณ์ของโรคมะเร็งในผู้ป่วยดีขึ้น ประชากรในก้อนมะเร็งส่วนใหญ่ (bulk cells) จะตอบสนองดีต่อการรักษา (chemosensitive cells) มีเพียงประชากรส่วนน้อย คือ เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่มีคุณสมบัติต่อการรักษา โดยสามารถรอดพ้นจากผลของยาเคมีบำบัดและการฉายแสง¹⁵⁻¹⁷ โดยปัจจุบัน พบว่ามีกลไกหลายอย่างที่พบในเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดแต่ไม่พบในเซลล์ปกติทั่วไป ที่ทำให้เซลล์เหล่านี้ สามารถรอดชีวิตจากผลของยาเคมีบำบัดและการฉายรังสี เช่น มีการเพิ่มขึ้นของกลไก Wnt/β-catenin, Hedgehog และ Notch signalling¹⁸⁻²⁰ มีการแสดงออกของระดับ Adenosine triphosphate (ATP) binding cassette (ABC) transporters เพิ่มมากขึ้น²¹ มีกระบวนการ DNA repair ที่ยอดเยี่ยม²² และมีกระบวนการแบ่งตัวช้า (slow self-renewal)²³ ดังนั้น ในการที่จะมุ่งเป้าในการรักษามะเร็งให้หายขาด ไม่กลับมาเป็นซ้ำอีก จำเป็นจะต้องมุ่งเป้าในการทำลายเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดและมีผลกระทบต่อเซลล์ปกติอื่นๆ เพื่อไม่ให้เกิดการเป็นซ้ำของมะเร็งขึ้นมาได้อีก ดังนั้น ประชากรเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง จึงเป็นที่สนใจในการศึกษาค้นคว้าอย่างมาก ในการศึกษาคุณสมบัติจำเพาะของเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดนั้นเป็นเรื่องท้าทายอยู่ไม่น้อย เนื่องจากคุณสมบัติจำเพาะของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งหลายๆ อย่างมีลักษณะเหมือนสเต็มเซลล์ปกตินี้จึงเป็นความยากในการที่จะมุ่งเป้าในการทำลายเฉพาะเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดแต่ไม่ให้มีผลกระทบต่อสเต็มเซลล์ หรือเซลล์ปกติอื่นๆ ดังนั้น ความรู้เกี่ยวกับคุณสมบัติของเซลล์มะเร็งต้นกำเนิด ยังต้องการศึกษาค้นคว้าอีกมากในการระบุประชากรเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งและศึกษากลไกสำคัญของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการดื้อยา แล้วนำไปสู่การพัฒนาปรับปรุงการกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งต่อไปในอนาคต เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตอบสนองต่อการรักษาและทำให้มีการพยากรณ์โรคที่ดีขึ้นในผู้ป่วยมะเร็ง ซึ่งต่อไปในอนาคตมะเร็งอาจจะเป็นโรคที่สามารถรักษาได้หายขาด หากความลับของกลไกการดื้อยาในเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดถูกค้นพบและเปิดเผย

What is cancer stem cell?

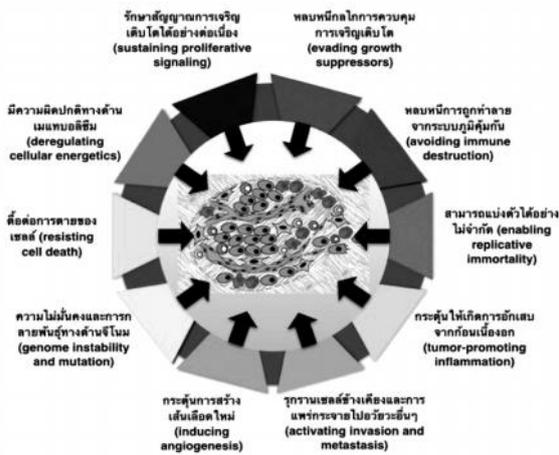
ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปแล้วว่า มะเร็งหลายชนิดประกอบด้วยเซลล์ที่มีความต่างแบบกัน (heterogeneity) โดยประกอบด้วยเซลล์ที่มีระดับการเปลี่ยนสภาพให้มีความจำเพาะแตกต่างกัน (range of differentiation phenotypes) ประชากรส่วนมากของมะเร็งเป็นเซลล์ที่มีลักษณะไม่ก่อมะเร็ง (non-tumorigenicity) และเป็นเซลล์ที่ตอบสนองต่อการรักษา ด้วยยาเคมีบำบัดและการฉายแสง (chemosensitive cells) และมีประชากรมะเร็งส่วนน้อย (subpopulation)²⁴ ซึ่งปัจจุบันพบว่า เซลล์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญอย่างมากที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา นอกจากนี้ ยังมีบทบาทเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดการสร้างมะเร็งขึ้นใหม่ (tumor initiation) การเติบโตของก้อน มะเร็ง (tumor growth) การกลับเป็นซ้ำของมะเร็ง (tumor recurrence) การพัฒนาก้าวหน้าของโรค (progression) และการแพร่กระจายของมะเร็ง (metastasis) ประชากรส่วนน้อยนี้คือ เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง (cancer stem cells, CSCs) โดย ความต่างแบบกัน (heterogeneity) ของมะเร็ง สามารถแบ่ง ออกได้เป็น 2 แบบ คือ Intertumor heterogeneity คือ ถึงแม้ จะเป็นมะเร็งชนิดเดียวกันแต่ก็มีความต่างแบบกันในแง่ของการพยากรณ์โรคและการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ป่วย แต่ละคนที่เป็นมะเร็งชนิดเดียวกัน ส่วน Intratumor heterogeneity คือ การมีความต่างแบบกันของชนิดเซลล์มะเร็งที่พบในมะเร็งที่เกิดในผู้ป่วยรายนั้นๆ นี้จึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้โรคมะเร็งเป็นโรคที่ซับซ้อนทำให้มีความยากในการรักษาจึงส่งผลให้ผู้ป่วยมะเร็งมีผลการตอบสนองต่อการรักษาที่แตกต่างกันและไม่สามารถคาดเดาได้²⁵

คำจำกัดความของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง จะเป็นการให้คำจำกัดความในแง่ทางด้านการทำงานมากกว่าคำจำกัดความโดยทั่วไปของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง คือ เป็นประชากรมะเร็งส่วนน้อยที่มีคุณสมบัติในการก่อมะเร็ง (tumorigenicity) มากกว่าประชากรมะเร็งส่วนใหญ่โดยอาศัยการจำแนกด้วยวิธีการที่เหมาะสม หากใช้คำจำกัดความที่รัดกุมมากขึ้น เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งจะหมายถึง ประชากรมะเร็งที่แม้เพียงใช้เซลล์จำนวน 1 เซลล์ในการปลูกถ่ายในสัตว์ทดลองแล้วสามารถทำให้เกิดก้อนมะเร็งขึ้นมาใหม่ โดยก้อนมะเร็งใหม่นี้จะมีคุณลักษณะเหมือนทุกประการกับก้อนมะเร็งที่ถูกสกัดออกมาตอนต้นและสามารถที่จะนำเซลล์ไปปลูกถ่ายในสัตว์ทดลองแล้วเกิดเป็นมะเร็งขึ้นมาใหม่ได้อย่างต่อเนื่องไม่จำกัด (indefinite serial xenotransplantation)^{26,27} อย่างไรก็ตาม การที่จะพิสูจน์เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งให้ได้ตามคำจำกัดความที่รัดกุมนี้แทบจะเป็นไปไม่ได้เลย เนื่องจากประการแรก ประชากรมะเร็งมีลักษณะเป็น heterogeneity โดยเฉพาะมะเร็งที่เป็นก้อน (solid tumors) การที่จะนำเพียง 1 เซลล์ไปปลูกถ่ายใน

สัตว์ทดลองซึ่งมีสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันอย่างมากกับสิ่งแวดล้อมที่เซลล์มะเร็งถูกสกัดออกมา แล้วก่อให้เกิดเป็นมะเร็งที่มีลักษณะประชากรเหมือนกับมะเร็งต้นแบบทุกประการนั้น แทบจะไม่สามารถทำได้เลย ประการที่สองการจะปลูกถ่ายเซลล์ในสัตว์ทดลอง ไม่สามารถนำเซลล์ไปปลูกถ่ายได้โดยตรงจำเป็นจะต้องปลูกถ่ายพร้อมกับองค์ประกอบที่เป็นส่วนพยุง (stromal components) เช่น normal fibroblasts, carcinoma-associated fibroblasts (CAF) และ urogenital sinus mesenchyme (UGM) ร่วมกับ extracellular matrix เช่น Matrigel หรือ collagen ซึ่งในบางครั้ง บริเวณที่ปลูกถ่ายเซลล์ก็แตกต่างจากบริเวณที่สกัดเซลล์มะเร็งมา ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลให้มะเร็งที่สร้างขึ้นมามีความยากที่จะเหมือนกับมะเร็งต้นแบบได้ทุกประการ ประการที่สาม ในการที่จะสกัดเซลล์เพื่อทำการปลูกถ่าย โดยปกติจะคัดแยกเซลล์ที่แสดงออกของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง (marker-positive population) เพื่อใช้ในการปลูกถ่ายเซลล์ ส่วนเซลล์ที่ไม่มีการแสดงออกของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง (marker-negative population) จะถูกคัดแยกทิ้งไป ซึ่งอันที่จริงแล้วประชากรที่ไม่มีการแสดงออกของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งก็อาจจะมีความสำคัญในการเอื้อให้มีการเจริญของมะเร็ง²⁸ ดังนั้น จึงทำให้มะเร็งที่เกิดขึ้นมามีคุณสมบัติที่ไม่เหมือนทุกประการกับมะเร็งต้นแบบ

Theory of cancer stem cells

มะเร็งเป็นเซลล์ที่มีความผิดปกติในระดับพันธุกรรม (genetic aberration) จึงทำให้มีการเจริญเติบโตของเซลล์อย่างผิดปกติ อย่างไม่สามารถควบคุมได้ ส่งผลให้เกิดเป็นก้อนมะเร็งขึ้นมา เซลล์มะเร็งจะมีคุณสมบัติสำคัญ (hallmarks of cancer) คือ 1. มีความสามารถในการรักษาสัญญาณเกี่ยวกับการเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่อง (sustaining proliferative signaling) 2. มีความสามารถในการหลบหนีกลไกการควบคุมการเจริญเติบโต (evading growth suppressors) 3. สามารถหลบหนีการถูกทำลายจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ (avoiding immune destruction) 4. มีความสามารถในการแบ่งตัวได้อย่างไม่จำกัด (enabling replicative immortality) 5. สามารถกระตุ้นทำให้เกิดการอักเสบได้ (tumor-promoting inflammation) 6. กระตุ้นให้เกิดการรุกรานเซลล์ข้างเคียงและการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นๆ (activating invasion และ metastasis) 7. มีการกระตุ้นให้มีการสร้างเส้นเลือดใหม่ (inducing angiogenesis) 8. มีความไม่มั่นคงและมีการกลายพันธุ์ทางด้านจีโนม (genome instability and mutation) 9. ตี้ออกการตายของเซลล์ (resisting cell death) 10. เซลล์มีความผิดปกติทางด้านเมแทบอลิซึม (deregulating cellular metabolism) (รูปที่ 1)²⁹



รูปที่ 1 ลักษณะจำเพาะของเซลล์มะเร็ง (Hallmarks of cancer cells) 10 ประการและการรักษาที่เป็นไปได้ในการยับยั้งคุณสมบัติแต่ละประการของมะเร็ง²⁹

ดังนั้น เซลล์มะเร็งจึงมีความแตกต่างกับเซลล์ปกติทั่วไปอย่างสิ้นเชิงในการศึกษา เพื่อเข้าใจถึงลักษณะของเซลล์มะเร็งอันจะมีประโยชน์ในการนำไปพัฒนาปรับปรุงวิธีการรักษาเพื่อให้เซลล์มะเร็งตอบสนองต่อการรักษามากขึ้น รวมถึงให้ผลของการรักษาจำกัดอยู่ที่เซลล์มะเร็งโดยมีผลต่อเซลล์ปกติอื่น ๆ น้อยที่สุด เพื่อลดภาวะแทรกซ้อนจากการรักษา ปัจจุบันจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับคุณลักษณะของเซลล์มะเร็งอย่างกว้างขวาง มะเร็งปัจจุบันเชื่อว่าเกิดจากการสะสมการกลายพันธุ์ทางด้านพันธุกรรม (genetic mutation) ซึ่งอาจจะเกิดจากความไม่แน่นอนทางพันธุกรรม (genetic instability) และการได้รับสารก่อมะเร็ง (carcinogens) เป็นระยะเวลาอันยาวนานจนกระทั่งมีผลทำงานเซลล์ ปกติกลายเป็นเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตาม เซลล์ที่เป็นต้นกำเนิดของมะเร็งหลายๆ ชนิด เช่น เซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cells) กลับเป็นเซลล์ที่มีอายุไม่ได้ยืนยาว ซึ่งทำให้ขัดแย้งกับความเชื่อที่ว่ามะเร็งเกิดจากการสะสมของ mutation เป็นระยะเวลาอันยาวนาน อีกประเด็นที่ยังไม่มีหลักฐานพิสูจน์แน่ชัด คือ ระยะเวลาอันยาวนานเท่าใดที่จะทำให้เกิดมะเร็งในปัจจุบัน จึงมีการเสนอ แนวคิดเกี่ยวกับเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่มีชีวิตที่ยืนยาวมีโอกาสสะสม mutation ได้มาก น่าจะเป็นเซลล์ที่เป็นต้นกำเนิดของมะเร็งชนิดต่างๆ ขณะนี้ยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดที่สามารถระบุว่ามะเร็งมีต้นกำเนิดมาจากเซลล์ประเภทใดในการศึกษาที่ผ่านมาได้เสนอหลายทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ ต้นกำเนิดของมะเร็ง

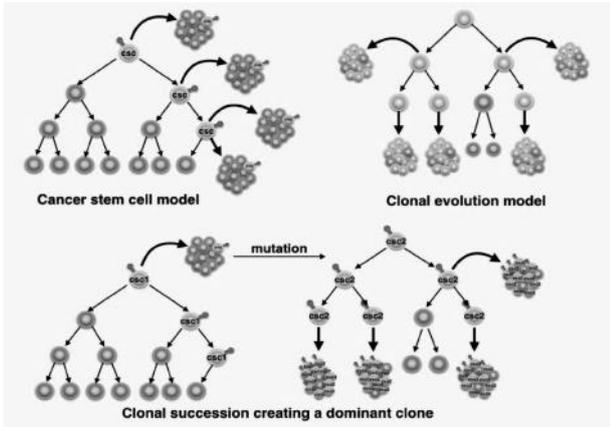
ในการศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ต้นกำเนิดของมะเร็ง (the cell origin of cancer) ในปัจจุบันมีการเสนอสมมติฐานเกี่ยวกับการเกิดมะเร็งเอาไว้หลายทฤษฎีเมื่อประมาณ 150 ปีที่ผ่านมา ได้มีการเสนอแนวคิดที่ว่ามะเร็งเกิดจาก “embryonic-like cells” ซึ่งต่อมาแนวคิดนี้ก็ได้รับการยอมรับจากนักวิจัย รุ่นต่อๆ มา³⁰

ซึ่งในช่วงหลายๆ สิบปีที่ผ่านมา ได้มีการศึกษาค้นคว้าทางด้านต้นกำเนิดมะเร็งอย่างกว้างขวาง จนทำให้เกิดองค์ความรู้เกี่ยวกับต้นกำเนิดของมะเร็ง มีการเสนอสมมติฐานว่า ต้นกำเนิดของมะเร็งเกี่ยวข้องกับ cancer stem cells หรือ tumor initiating cells และมีความรู้เพิ่มเติมภายหลังว่ามะเร็งประกอบไปด้วยเซลล์หลายชนิดมีลักษณะความต่างแบบ (heterogeneity)

ปัจจุบันมีการนำเสนอทฤษฎีเกี่ยวกับมะเร็งอยู่ 2 แบบ คือ cancer stem cell model หรือ heirarchical model และ clonal evolution model ทฤษฎีแรก คือ cancer stem cell model กล่าวไว้ว่า มะเร็งเกิดจากประชากรส่วนน้อยของมะเร็งเท่านั้น คือ เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง เนื่องจากคุณสมบัติ self-renewal และ proliferation ทำให้เกิดเป็นก้อนมะเร็งและมีการคงอยู่ของเซลล์มะเร็ง ส่วนเซลล์อื่นๆ จะมีชีวิตสั้นและไม่มีความสามารถที่จะทำให้เกิดมะเร็งได้ (รูปที่ 2, A) ส่วนทฤษฎีที่ 2 คือ clonal evolution model กล่าวว่า เซลล์ทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นเซลล์ต้นกำเนิดปกติ หรือเซลล์ที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ทุกเซลล์มีโอกาสที่จะสะสมการกลายพันธุ์ (acquired mutation) จนกระทั่งทำให้เซลล์นั้นเกิดการกลายพันธุ์จนได้รับคุณสมบัติที่เหนือกว่าเซลล์อื่นๆ ในการเจริญเติบโตก่อให้เกิดเป็นมะเร็งขึ้นมา (รูปที่ 2, B)³¹ โมเดลนี้จะมีลักษณะคล้ายๆ กับ stochastic model ซึ่งเป็นโมเดลที่กล่าวว่า เซลล์ทุกเซลล์มีความสามารถที่จะทำให้เกิดมะเร็ง (tumorigenic potential) เมื่อเซลล์มี acquired mutation ถึงระดับหนึ่งจะทำให้เซลล์นั้นมีคุณสมบัติเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งก่อให้เกิดมะเร็งตามมา³² อย่างไรก็ตามการเกิด progression ของโรคมะเร็งนั้น สามารถอธิบายได้จากทั้ง 2 ทฤษฎีร่วมกัน คือ เมื่อเกิดเป็นมะเร็งขึ้นมาจากเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งแล้วเมื่อผ่านการรักษาหรือระยะเวลาผ่านไป CSC1 เกิด clonal evolution ได้รับ acquired mutation จนกระทั่งกลายเป็น CSC2 ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างไปจาก CSC1 และมีลักษณะการแสดงออกที่ต่างออกไปแล้วมีการแบ่งตัวทำให้เกิดเป็นมะเร็งขึ้นมาใหม่ที่มีลักษณะที่แตกต่างและรุนแรงมากขึ้นจากมะเร็งที่เกิดจาก CSC1 ดังนั้น ทฤษฎีนี้สามารถใช้อธิบายผู้ป่วยที่ผ่านการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดหรือรังสีรักษาที่เหมือนจะหายแล้วกลับมาเป็นใหม่อีกครั้งแล้วโรคมีลักษณะที่รุนแรงกว่าเดิมและต้องอาศัยยาเคมีบำบัดที่เคยตอบสนอง (รูปที่ 2, C)³¹

Identification of cancer stem cells

เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง เป็นประชากรที่มีความสำคัญในแง่ของการตอบสนองต่อการรักษาและการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็ง ดังนั้น การที่จะสามารถพัฒนาการรักษาที่มีความจำเพาะในการกำจัดเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดนี้ จะต้องมีความ



รูปที่ 2 ทฤษฎีการเกิดมะเร็ง cancer stem cell model เป็นเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่ทำให้เกิดเป็นมะเร็งขึ้นมา (รูป A) clonal evolution model เป็นการที่เซลล์ใดๆ สามารถมี acquired mutation แล้วกลายเป็นเซลล์ที่เติบโตผิดปกติ ก่อให้เกิดมะเร็งขึ้นมา (รูป B) และทฤษฎีที่ใช้ในการอธิบาย progression ของโรคที่เป็นการนำเอา 2 ทฤษฎีข้างต้น มาอธิบายโรคมะเร็งที่มีความรุนแรงมากขึ้นและดื้อยาเดิมที่เคยรักษา (รูป C)³³

การศึกษาเกี่ยวกับคุณลักษณะของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง ดังนั้น ในการศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งจะต้องมีกระบวนการในการระบุเซลล์ ต้นกำเนิดมะเร็ง (identification) ที่ให้ความจำเพาะและแม่นยำ โดยจะต้องเลือกระบุเฉพาะประชากรที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งจริงๆ ในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานยืนยันว่าวิธีการใดเป็นวิธีที่เหมาะสมและมีความแม่นยำมากที่สุดในการระบุประชากร เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งมีหลากหลายวิธีที่สามารถระบุประชากร เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง และแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันออกไป ปัจจุบันมะเร็งหลายชนิดถูกค้นพบว่า มีเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง เช่น มะเร็งสมองชนิด glioma มะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งตับอ่อน เป็นต้น³⁴ ซึ่งมะเร็งแต่ละชนิดจะมีตัวจับการแสดงออก (marker) ที่แตกต่างกันออกไป ดังแสดงในตารางที่ 1³⁵

วิธีการในการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง สามารถทำได้ 4 วิธี ดังนี้ 1. Marker-based analysis 2. Side population (SP) 3. Sphere-formation assays และ 4. Label-retaining properties ซึ่งวิธีการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งโดยการวิเคราะห์โปรตีนบ่งชี้ (marker-based analysis) เป็นวิธีที่นิยมมาก และใช้อย่างแพร่หลาย โดยอาศัยโปรตีนบ่งชี้ที่มีความจำเพาะ (specific marker) กับการแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง โดยการใช้โปรตีนบ่งชี้ในการจับการแสดงออกของโปรตีนที่อยู่บนผิวเซลล์ (surface marker)

หรือจับการแสดงออกของโปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์ (intracellular marker) เช่น โปรตีนที่อยู่ภายในนิวเคลียส (nuclear protein) หรือโปรตีนที่อยู่ในน้ำภายในเซลล์ (cytoskeletal protein) ซึ่ง surface markers ที่ปัจจุบันใช้ในการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งมีหลายชนิด มะเร็งแต่ละชนิดก็ใช้ surface marker ในการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งแตกต่างกันออกไป ดังนี้

ในการที่จะคัดเลือกเพื่อแยกเอาประชากรเซลล์ต้นกำเนิดมาเรียงออกมาจากประชากรมะเร็งอื่นๆ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไปนั้น สามารถใช้วิธี flow cytometry หรือ microbeads-based affinity purification สำหรับการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่เป็น surface markers ส่วนที่เป็น intracellular marker เช่น nuclear protein หรือ cytoskeletal protein สามารถที่จะใช้ GFP-tagged retroviral หรือ lentiviral vector system ในการที่จะระบุหาประชากรเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง สามารถใช้วิธีในการแปลงพันธุสัตว์ทดลอง (transgenic animal) โดยการใส่ gene promoter-driven reporter เช่น GFP และ LacZ เป็นต้น เข้าไปในสัตว์ทดลอง แล้วคัดแยกเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งโดยใช้ flow cytometer ซึ่งข้อเสียในการใช้ marker-based analysis คือ โปรตีนที่ต้องการจะจับ โดยใช้ specific marker นั้น มักจะมีการเปลี่ยนแปลงเสมอ เมื่อเซลล์มีการพัฒนาเจริญเติบโต ดังนั้น เนื่องจาก specific marker มีความจำเพาะมากเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเกิดขึ้น จึงทำให้ไม่สามารถระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งได้ทั้งหมด ที่มีเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งอยู่ จึงอาจนำไปสู่ false negative result ได้³⁶

การระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งด้วยวิธี side population โดยอาศัยหลักการที่ว่าเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งจะมีการแสดงออกของโปรตีนดื้อยาหลายชนิด คือ multiple drug resistance (MDR) family เช่น MDR1 ซึ่งเป็นตัวขนส่งที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane transporter) นอกจากนี้ยังมี ABCG2 (BCRP หรือ breast cancer resistance protein) ซึ่งตัวขนส่งเหล่านี้

ตารางที่ 1 Cell surface phenotypes ของ CSCs³⁵

Tumor types	Marker(s)
Leukemia	CD34 ⁺ CD38 ⁺ HLA-DR-CD71 ⁺ CD90 ⁺ CD117 ⁺ CD123 ⁺
Breast cancer	ESA ⁺ CD44 ⁺ CD24 ^{low} Lineage ⁻ , ALDH-1 ^{high}
Liver cancer	CD133 ⁺ , CD49f ⁺ , CD90 ⁺
Brain cancer	CD133 ⁺ , BCRP1 ⁺ , A2B5 ⁺ , SSEA-1 ⁺
Lung cancer	CD133 ⁺ , ABCG2 ^{high}
Colon cancer	CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , CD166 ⁺ , EpCAM ⁺ , CD24 ⁺
Multiple myeloma	CD138 ⁺
Prostate cancer	CD44 ⁺ , α2β1 ^{high} , CD133 ⁺
Pancreatic cancer	CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , EpCAM ⁺ , CD24 ⁺
Melanoma	CD20 ⁺
Head and neck cancer	CD44 ⁺

ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์จะทำหน้าที่ในการขนส่งยาหรือสารต่างๆ ออกจากเซลล์ (efflux) ทำให้เซลล์รอดพ้นจากสารอันตรายต่างๆ (cytotoxic agents) ดังนั้น เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งจะมีความสามารถในการปั๊มเอาสารจำพวก Hoechst 33342 ออกจากเซลล์ได้ เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง flow cytometer จะพบว่า ประชากรที่เป็น side หรือ tail Hoechst^{dim} ซึ่งจะอยู่ในช่องทางด้านล่างซ้ายเป็นเซลล์ที่มีการสะสมของสาร Hoechst 33342 ภายในเซลล์ในปริมาณที่น้อยหรือไม่มีเลย เรียกประชากรนี้ว่า side population (SP) ซึ่งหมายถึง เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง ส่วนประชากรส่วนใหญ่ที่สะสมสารนี้ภายในเซลล์ เนื่องจากไม่มีตัวขนส่งที่เยื่อหุ้มเซลล์ที่ช่วยในการปั๊มสารเหล่านี้ออกไป จะมีลักษณะ Hoechst^{hi} จะเรียกว่า non-SP จะเป็นเซลล์มะเร็งทั่วไปที่ไม่ได้มีคุณสมบัติเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง ข้อดีของวิธีนี้ คือ เป็นวิธีที่ง่ายไม่ซับซ้อนที่ใช้ในการระบุและจำแนกเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง ปัญหาที่เกิดขึ้นในวิธีนี้ คือ หากมีการสะสมของสาร Hoechst 33342 เป็นเวลานาน เซลล์ที่สะสมสารนี้จะเกิดเป็นพิษต่อเซลล์และทำให้เซลล์ตายได้ในที่สุด จึงทำให้ขาดประชากรที่ใช้ในการเทียบและควบคุม นอกจากนี้ บางการศึกษาพบว่า side population ไม่เพียงแต่พบในเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งเท่านั้น ยังพบในเซลล์บรรพบุรุษด้วย (progenitor cells)^{37,38}

วิธี sphere-formation assays เป็นวิธีการในการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งในสภาวะปลอดเชื้อซึ่งเป็นภาวะพิเศษที่กระตุ้นให้เซลล์เจริญเติบโตในลักษณะแขวนลอย (floating cells) โดยเจริญเติบโตเป็นลักษณะลูกบอล (sphere formation) โดยปกติการเลี้ยงเซลล์ในสภาวะปลอดเชื้อ เซลล์จะโตเป็นชั้นเดียว (monolayer cells) ซึ่งสเต็มเซลล์ปกติหลายชนิด เช่น สเต็มเซลล์ของระบบประสาท สเต็มเซลล์ของระบบเลือด และสเต็มเซลล์ของเต้านม เมื่อกระตุ้นให้เซลล์อยู่ในสภาวะพิเศษเซลล์เหล่านี้จะมีการเจริญเติบโตที่เป็นลักษณะลูกบอล ซึ่งข้อดีของการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งโดยวิธีนี้ คือ เป็นวิธีที่ไม่ต้องอาศัย specific marker ในการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง แต่ข้อเสีย คือ จะต้องหาสภาวะที่เหมาะสมที่จะกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งสามารถเจริญแบบ sphere formation ให้ได้ แล้วหลังจากนั้นก็จะต้องหาวิธีในการจำแนกเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งจาก sphere ออกมา^{39,40}

วิธี label-retaining properties เป็นการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง โดยการใช้สาร thymidine analog BrdU (bromodeoxyuridine) โดยอาศัยหลักการเซลล์จำพวกสเต็มเซลล์หรือเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งเป็นเซลล์ชนิดที่มีการแบ่งตัวช้า (slow proliferation rate) และอยู่ในภาวะสงบนิ่ง (quiescent state) ดังนั้น เมื่อให้ BrdU เข้าไป เซลล์ปกติทั่วๆ ไปที่มีการแบ่งตัวเร็ว เมื่อมีการแบ่งตัวหลายรอบ จะทำให้ปริมาณสาร

BrdU ในเซลล์ลดลงในขณะที่เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่มีการแบ่งตัวช้า เมื่อมีการติดตามเซลล์พบว่ายังคงมีปริมาณสาร BrdU ในระดับสูง เรียกว่า label-retaining cells (LRCs) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้วิธี immunohistochemistry หรือ flow cytometry อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังมีปัญหาในการที่จะระบุและจำแนกเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่มีชีวิตให้แยกออกมาจากเซลล์อื่นๆ โดยสามารถนำเซลล์ที่ยังมีชีวิตนี้ไปทดสอบถึงความ เป็นเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งต่อไปได้ ซึ่งยังทำได้ยากและต้องอาศัยการออกแบบระบบตรวจจับทางด้านพันธุกรรม (genetic tracking system) ที่เหมาะสม นอกจากนี้ บางการศึกษาพบว่า ประชากรที่เป็น LRCs ไม่ได้จำเพาะกับสเต็มเซลล์หรือเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งเท่านั้น ยังสามารถพบ LRCs ในประชากรอื่นๆ ได้ด้วย^{41,42}

Cancer stem cells in various cancers

เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งถูกค้นพบครั้งแรกในมะเร็งเม็ดเลือดขาว (acute myeloid leukemia, AML) โดย John Dick และคณะ⁶⁶ ขณะนั้นพบว่า มีเซลล์มะเร็งจำนวนน้อยของ AML ซึ่งมีการแสดงออกที่ผิวเซลล์ (surface marker phenotype) ของ CD34⁺CD38⁻ ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวขึ้นมาใหม่ที่มีลักษณะเหมือนกับมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่สกัดเซลล์เหล่านี้มา (parental tumors) เมื่อสกัดเซลล์เหล่านี้โดยใช้วิธี fluorescence-activated cell sorting (FACS) แล้วนำใส่เข้าไปในหนู (xenograft) ที่ถูกทำให้เกิดภาวะการขาดภูมิคุ้มกัน (immune-deficient mice) เซลล์เหล่านี้จะสามารถทำให้เกิดเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวขึ้นมาใหม่ โดยที่ประชากรที่มีการแสดงออก CD34⁺CD38⁺ และ CD34⁻ ไม่สามารถทำให้เกิดเป็นมะเร็งขึ้นมาได้⁴³ อย่างไรก็ตาม ในภายหลังมีการศึกษา พบว่า นอกจากประชากรมะเร็งที่มีการแสดงออกของ CD34⁺CD38⁻ แล้ว ประชากรอื่นๆ ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวขึ้นมาใหม่ (leukemia-initiating cells) เช่น CD34⁻, Lin⁺, CD38⁺ และ CD45RA⁺ เมื่อนำเซลล์เหล่านี้เข้าไปใส่ในหนูที่ทำให้เกิดภาวะขาดภูมิคุ้มกันอย่างแรง ไม่อ้วนและไม่เป็นเบาหวาน (Nonobese diabetic severe-combined immunodeficiency, NOD/SCID mice)⁴⁴ ต่อมาได้มีการศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งในมะเร็งชนิดที่เป็นก้อน (solid tumors) ซึ่ง Al-Hajj และคณะได้ค้นพบเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง โดยศึกษาในมะเร็งเต้านมในคน เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งถูกสกัดออกมาโดยอาศัยวิธี FACS เช่นเดียวกัน โดยใช้การแสดงออกของโปรตีน CD44 และโปรตีน CD24 ในการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งในการศึกษานี้ พบว่า เฉพาะประชากรที่มีการแสดงออกของ CD44⁺ และ CD24⁻ เท่านั้นที่สามารถปลูกถ่ายในสัตว์ทดลองที่ทำให้เกิด NOD-SCID

แล้วทำให้สามารถเกิดเป็นมะเร็งต้นกำเนิดใหม่ที่มีลักษณะเหมือนมะเร็งต้นกำเนิดต้นที่เซลล์มะเร็งถูกสกัดออกมา ในขณะที่ประชากรที่เป็น CD44⁺, CD24⁺ และ CD44⁻ ไม่สามารถทำให้เกิดมะเร็งขึ้นมาใหม่ได้ ซึ่งมะเร็งต้นกำเนิดใหม่ที่มีลักษณะต่างแบบ (heterogeneity) และประกอบไปด้วยประชากร CD44⁺CD24⁻, CD44⁺CD24⁺ และ CD44⁻ นอกจากนี้เซลล์เหล่านี้สามารถนำไปปลูกถ่ายต่อเนื่อง (serial transplant) แล้วทำให้เกิดมะเร็งได้ ซึ่งเป็นหลักฐานที่แน่ชัดที่พิสูจน์ถึงลักษณะ self-renewal ของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง⁴⁵

Roles of cancer stem cells in current treatments

ผลการรักษา มะเร็งหลายชนิดในปัจจุบัน ยังไม่น่าเป็นที่พอใจนัก ยังมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ มะเร็งบางชนิดผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตเพียงไม่ถึงปีภายหลังจากการให้การรักษาแล้ว นอกจากนี้ ผลการรักษาด้วยเคมีบำบัดหรือการฉายแสง ยังมีการตอบสนองต่ำและมีผลข้างเคียงจากการรักษาмаก ดังนั้น เป้าหมายในการรักษามะเร็งในปัจจุบัน จึงมุ่งเป้าในการกำจัดเซลล์มะเร็งต้นกำเนิด ซึ่งเป็นประชากรที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านการรักษาและมีชีวิตรอดจากการรักษาแบบดั้งเดิม นอกจากนี้ ยังมีการรักษาที่มุ่งเป้าจำเพาะมากขึ้น (targeted therapy) เพื่อลดผลข้างเคียงและลดผลกระทบต่อเซลล์ปกติอื่นๆ ดังนั้น ในการจะรักษามะเร็งให้หายขาดและมีผลข้างเคียงจากการรักษา น้อย จำเป็นที่จะต้องมุ่งเป้าในการกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง

ปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกแน่ชัดที่เป็นกลไกหลักในการดื้อยาของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง มีการศึกษาอย่างแพร่หลายทั่วโลกถึงกลไกที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง มีกลไกสำคัญที่ถูกค้นพบในเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาแต่ไม่พบในเซลล์ปกติทั่วไป ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งไม่ได้อาศัยเพียงกลไกเดียวในการทำให้รอดพ้นจากผลของยาเคมีบำบัดหรือการฉายแสง (cytotoxic effects) แต่มีหลายกลไกที่ถูกค้นพบในเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง ปัจจุบันกลไกที่สำคัญเกี่ยวข้องกับการดื้อยาในเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่ถูกค้นพบ คือ key signaling pathways ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ self-renewal คือ Wnt/ β -catenin, Notch และ Hedgehog signaling pathways มีการแสดงออกในระดับสูงของ ABC transporters มีความสามารถในการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ขูดเยื่อม (active DNA repair capacity) และมีการแบ่งตัวเองช้า (slow rate of self-renewal)^{46,47}

ปัจจุบันในการรักษาโรคมะเร็งนั้น มีข้อจำกัดหลายอย่างที่ทำให้การรักษาไม่ประสบความสำเร็จที่สำคัญ คือ เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งต่อต้านการรักษาเดิม คือ ยาเคมีบำบัดและการฉายแสง นอกจากนี้ ยาเคมีบำบัดปัจจุบันยังไม่สามารถ

ที่จะเลือกทำลายเฉพาะเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง หรือเซลล์มะเร็งเท่านั้น แต่ยังมีผลในการทำลายเซลล์ปกติอื่นๆ อีกด้วย จึงทำให้โรคมะเร็งในปัจจุบันมีการกลับเป็นซ้ำหรือมีการกระจายไปตำแหน่งอื่นภายหลังการรักษา เนื่องจากการรักษาในปัจจุบัน ไม่สามารถกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งได้ การรักษามะเร็งโดยการมุ่งเป้าในการทำลายเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งนั้น ปัจจุบันมีแนวทางที่สามารถทำได้ ดังนี้

Targeting cellular surface markers โดยอาศัยหลักการที่เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งมีโปรตีนที่ผิวเซลล์ที่จำเพาะแตกต่างจากเซลล์ปกติอื่นๆ ทั่วไป จึงมีการออกแบบแอนติบอดีที่มีสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic agents) เกาะติดอยู่ให้สามารถจับกับโปรตีนที่จำเพาะนี้ แล้วให้มีการทำลายเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง เช่น CD33 ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความจำเพาะที่แสดงออกเฉพาะมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดไมอีโลบลาส (acute myeloblastic leukemia: AML) ปัจจุบันมีการพัฒนายาคือ gemtuzumab ozogamicin ซึ่งเป็นแอนติบอดีต่อโปรตีน CD33 ของมนุษย์ที่มีการเกาะของสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ คือ calicheamicin ปัจจุบันใช้ในการรักษา AML อย่างกว้างขวาง⁴⁸ นอกจากนี้ยังมีโปรตีน CD47 ซึ่งเป็นโปรตีนที่แสดงออกสูงจำเพาะในมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟบลาส (acute lymphoblastic leukemia: ALL) มะเร็งสมองชนิด glioma จะมีการแสดงออกของโปรตีน CD133 ที่สูง ซึ่งปัจจุบันมีการพัฒนาโดยมีการใช้ carbon nanotubes ที่เกาะติดกับแอนติบอดีต่อ CD133 ชนิด monoclonal antibody แล้วตามด้วยการฉายแสงชนิดที่ใกล้กับรังสีอินฟราเรด (infrared laser) ซึ่งจะทำลายเฉพาะเซลล์มะเร็งสมองไกลิโอมาที่เป็น CD133⁺ เท่านั้น⁴⁹

Targeting ATP-driven efflux transporters กลไกที่เป็นสาเหตุการดื้อยาเคมีบำบัดอย่างหนึ่งของเซลล์มะเร็งคือ ปั๊มที่อาศัย ATP (ATP-driven pump) ซึ่งเป็นปั๊มที่ทำหน้าที่ในการปั๊มยาเคมีบำบัดออกจากเซลล์ ทำให้เซลล์ไม่ถูกทำลายด้วยยาเคมีบำบัด ส่งผลให้เกิดการดื้อยาหลายชนิดขึ้น (multidrug resistance) มีการพัฒนาไกลโกลหลายอย่างเพื่อที่จะยับยั้งการทำงานของปั๊มเพื่อไม่ให้เกิดการดื้อยาหลายชนิด มีการพัฒนาทางด้านเภสัชศาสตร์ในการยับยั้งการทำงานของปั๊มที่อาศัย ATP ตัวยับยั้งปั๊มชนิด P-gp (P-gp efflux pump inhibitor) คือ verapamil ซึ่งโดยปกติมักจะใช้ในการยับยั้งการปั๊มออกของสาร Hoechst dye ที่ใช้ในการคัดเลือกระบาดส่วนน้อยของมะเร็ง คือ side population (SP) ในการรักษาจะให้ verapamil ร่วมกับยาต้านมะเร็งตัวอื่นๆ คือ Doxorubicin, paclitaxel หรือ vincristine ซึ่งให้ผลการรักษาออกมาในทางที่ดี⁵⁰ นอกจากนี้ ยังมีการคิดค้นพัฒนาตัวยับยั้งอื่นๆ ที่สามารถยับยั้งได้ทั้ง P-gp และ MRP1 เช่น MS-209, VX-710 และ tariquidar ได้มีการใช้ยาเหล่านี้ พบว่า MS-209 ให้ผลการ

รักษาที่สามารถเอาชนะการดื้อยาในมะเร็งเต้านมได้ส่วนตัวยาคอื่น ๆ อยู่ในระหว่างการศึกษา⁵¹⁻⁵³

Targeting key signalling cascades การกระตุ้นวิถีการยับยั้งอะพอพโทซิส (active anti-apoptotic pathways) และการยับยั้งวิถีอะพอพโทซิส (inactive pro-apoptosis pathways) เป็นแนวทางหนึ่งที่นักวิจัยกำลังให้ความสนใจเป็นอย่างมาก การใช้ antibody ในการยับยั้ง Notch signaling ซึ่งให้ผลการรักษาที่ดีในการยับยั้ง Notch1 ส่งผลให้มีจำนวนประชากรที่เป็น CD44⁺CD24^{-low} และมีการแพร่กระจายของมะเร็งน้อยเป็นการศึกษาใน cell line ของมะเร็งเต้านม⁵⁴ ขณะนี้มีการค้นคว้าเพื่อที่จะยับยั้ง Wnt signaling pathway โดยการใช้ monoclonal antibody ซึ่งน่าจะให้ผลดีในการรักษา⁵⁵ นอกจากนี้ การยับยั้ง Hedgehog pathway ก็ให้ผลในการรักษาดีเช่นกัน ในแง่ของการยับยั้งการแพร่กระจายของมะเร็งในการทดสอบในหนูทดลองโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งตับอ่อนของมนุษย์ (human pancreatic cancer cell line) ยังมีการใช้ cyclopamine ในการยับยั้ง SMO signaling ซึ่งจะยับยั้ง Hedgehog pathway โดยที่ cyclopamine มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (growth) ยับยั้งการรุกรานไปยังอวัยวะข้างเคียง (invasion) และยับยั้งการแพร่กระจายไปที่อื่น (distant metastasis) จากการศึกษาในมะเร็งเต้านมมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งตับอ่อน และมะเร็งสมองซึ่งได้ผลทั้งในการศึกษาในอวัยวะ (in vitro) และในกาย (in vivo)⁵⁶⁻⁵⁹ นอกจากนี้ cyclopamine ยังมีฤทธิ์เสริมกับ gemcitabine ในการลดจำนวนประชากรที่เป็น ALDH^{high} (tumor-initiating population) ของมะเร็งตับอ่อน⁶⁰ การยับยั้ง nuclear factor kappa B (NF-κB) สามารถที่จะลดการดื้อยาเคมีบำบัดของมะเร็งได้ ทำให้เซลล์มะเร็งมีความไวในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดเพิ่มขึ้น การให้ DOX และ PDTC (Pyrrolidine dithiocarbamate Ammonium เป็นตัวยับยั้ง NF-κB) ร่วมกัน ให้ผลดีในการเอาชนะการเกิดการดื้อยาหลายชนิด (multidrug resistance) และยังมีการศึกษาอีกหลายตัวในการยับยั้งวิถีต่างๆ เพื่อเอาชนะการเกิดการดื้อยาเคมีบำบัดหลายชนิดของเซลล์มะเร็ง⁶¹

Targeting the tumor microenvironment ภาวะสิ่งแวดล้อมระดับไมโคร (microenvironment) ของก้อนมะเร็งสามารถที่จะหล่อเลี้ยงและปกป้องเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งให้ปลอดภัยจากยาที่จะกระตุ้นให้เกิดอะพอพโทซิส (drug-induced apoptosis) ได้ เช่นในการศึกษามะเร็ง mature B-cell ซึ่งพบว่ามะเร็งที่รักษาไม่หาย พบว่า stromal cells ซึ่งเป็น tissue microenvironment ในไขกระดูกและ secondary lymphoid organ มีส่วนช่วยในตัวโรคแยะลงโดยช่วยในการเจริญเติบโตของ B-cell และทำให้เกิดการดื้อยา⁶² ได้มีการ

ศึกษาใช้ตัวยับยั้ง CXCL12 ซึ่งเป็นตัวรับของสารที่คัดหลั่งออกมาจากไขกระดูก คือ SDF-1/CXCL12 ซึ่งเป็น stromal cell-derived factor-1 โดยการใช้ Plerixafor (AMD3100) และ T14003 analog เมื่อมีการยับยั้ง CXCL12 เกิดขึ้น ทำให้มะเร็งชนิดนี้มีความไวต่อการถูกทำลายด้วยยาเคมีบำบัดมากขึ้น นอกจากนี้ การสร้างเส้นเลือดใหม่ในก้อนมะเร็ง พบว่ามีความสัมพันธ์กับการทำให้เซลล์มะเร็งต้นกำเนิดสามารถมีชีวิตรอด และดื้อต่อยาเคมีบำบัด^{62,63} ปัจจุบันพบว่า vascular endothelial growth factor (VEGF) เกี่ยวข้องกับการสร้างเส้นเลือดในก้อนมะเร็ง (microvasculature formation) มีการใช้ยา bevacizumab ในการมุ่งเป้าไปยัง VEGF ซึ่งมีผลในการลดการสร้างเส้นเลือดในก้อนมะเร็งทำให้เกิดการทำลาย CSC niche ซึ่งการศึกษาก่อนหน้านี้ ใช้ bevacizumab ในการรักษามะเร็งสมองชนิด glioblastoma พบว่ามีจำนวนของเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดลดลงอย่างชัดเจน⁶⁴ นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาใช้ TAT ซึ่งเป็น arginine-rich peptide (YGRKKRRQRRR) เป็นตัวพาสารโมเลกุลขนาดเล็กเข้าไปในเซลล์ เช่น biotin โดย TAT จะมีความไวต่อค่าความเป็นกรดต่าง โดยจะทำงานได้ดีในภาวะที่มีความเป็นกรดเล็กน้อย ค่า pH อยู่ในช่วง 6.5-7 ปัจจุบันมีการรายงานว่า กระบวนการนี้สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ Dox ภายในเซลล์ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของยาเพิ่มมากขึ้น⁶⁵

Prospective roles of cancer stem cells

ปัจจุบันมีหลักฐานมากมายในการยืนยันถึงการมีอยู่จริงของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง ซึ่งพบในมะเร็งหลายชนิดพบว่าเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งมีบทบาทสำคัญอย่างมากในการทำให้การกลับเป็นซ้ำของมะเร็ง (relapse) ทำให้เกิดการก้าวหน้าของมะเร็ง (progression) และการแพร่กระจาย (metastasis) ปัจจุบันมีการศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งอย่างกว้างขวางเพื่อมุ่งเป้าในการทำลายเซลล์นี้ เพื่อหวังผลให้การรักษา มะเร็งหายขาด ในการระบุประชากรเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง โดยทั่วไปแล้วยังใช้การระบุจากโปรตีนจำเพาะที่ผิวเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง (surface marker) อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันยังไม่มี surface marker ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งที่สามารถใช้ตรวจได้ในมะเร็งทุกชนิด จึงเป็นความยากในการที่จะมุ่งเป้าในการทำลายเฉพาะเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง นอกจากนี้เมื่อมะเร็งมี progression ของโรค surface marker จะมีการเปลี่ยนแปลงไปด้วยหรือไม่ ยิ่งเพิ่มความยากในการระบุเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งและยากที่จะมุ่งเป้ากำจัดเฉพาะเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันมีการพยายามศึกษาและพัฒนาวิธีการต่างๆ เพื่อมุ่งเป้าในการกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง ไม่ว่าจะเป็นการมุ่งเป้าโดยอาศัย surface marker

ของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง การมุ่งเป้าไปยัง ATP-driven efflux transporters การมุ่งเป้าไปยัง key signaling cascade ของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง และการมุ่งเป้าไปยังการทำลาย microenvironment niche ของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง จากการศึกษาทั้งในระดับ *in vitro* และ *in vivo* หลายวิธีมีผลการรักษาที่ดีมีแนวโน้มที่จะสามารถกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งได้อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาและพัฒนาวิธีการในการกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งยังต้องการการศึกษาค้นคว้าต่อไปเพื่อหวังผลในการนำมาพัฒนาปรับปรุงวิธีการรักษามะเร็งในรูปแบบเดิมให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น สามารถที่จะกำจัดเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งได้และทำให้มะเร็งสามารถรักษาหายขาดได้ต่อไปในอนาคต

References

- Spangrude GJ, Heimfeld S, Weissman IL. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science* 1988;241:58–62.
- Morrison SJ, Weissman IL. The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. *Immunity* 1994;1:661–73.
- Baum CM, Weissman IL, Tsukamoto AS, Buckle AM, Peault B. Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(7):2804–8.
- Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999 14;284:1168–70.
- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000;6:1229–34.
- Aubin JE. Bone stem cells. *J Cell Biochem Suppl* 1998;30-31:73–82.
- De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, Luyten FP. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum* 2001;44:1928–42.
- Telles PD, Machado MA de AM, Sakai VT, Nôr JE. Pulp tissue from primary teeth: new source of stem cells. *J Appl Oral Sci* 2011;19:189–94.
- Zachar V, Rasmussen JG, Fink T. Isolation and growth of adipose tissue-derived stem cells. *Methods Mol Biol* 2011;698:37–49.
- Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 2000 1;290:1775–9.
- Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:3828–32.
- Bruce WR, Van Der Gaag H. A Quantitative Assay for the Number of Murine Lymphoma Cells capable of Proliferation in vivo. *Nature* 1963 6;199:79–80.
- Kondo T, Setoguchi T, Taga T. Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line. *PNAS* 2004 20;101:781–6.
- Bergsagel DE, Valerie FA. Growth characteristics of a mouse plasma cell tumor. *Cancer Res* 1968;28:2187–96.
- Ewald B, Sampath D, Plunkett W. Nucleoside analogs: molecular mechanisms signaling cell death. *Oncogene* 2008 27;27:6522–37.
- Wilson TR, Johnston PG, Longley DB. Anti-apoptotic mechanisms of drug resistance in cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2009;9:307–19.
- Rochat B. Importance of influx and efflux systems and xenobiotic metabolizing enzymes in intratumoral disposition of anticancer agents. *Curr Cancer Drug Targets* 2009;9:652–74.
- Malanchi I, Peinado H, Kassen D, Hussenet T, Metzger D, Chambon P, et al. Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on β -catenin signalling. *Nature* 2008 3;452:650–3.
- Palma V, Lim DA, Dahmane N, Sanchez P, Brionne TC, Herzberg CD, et al. Sonic hedgehog controls stem cell behavior in the postnatal and adult brain. *Development* 2005 15;132:335–44.
- Abel EV, Kim EJ, Wu J, Hynes M, Bednar F, Proctor E, et al. The Notch Pathway Is Important in Maintaining the Cancer Stem Cell Population in Pancreatic Cancer. *PLoS One* [Internet]. 2014 Mar 19 [cited Oct 24, 2014];9(3). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3960140/>
- Dean M. ABC transporters, drug resistance, and cancer stem cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2009;14:3–9.
- Gerson SL, Reese J, Kenyon J. DNA repair in stem cell maintenance and conversion to cancer stem cells. *Ernst Schering Found Symp Proc* 2006:231–44.
- Moore N, Lyle S. Quiescent, Slow-Cycling Stem Cell Populations in Cancer: A Review of the Evidence and Discussion of Significance. *Journal of Oncology* 2010;29;2011:AID:396076.doi:10.1155/2011/396076
- Meacham CE, Morrison SJ. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature* 2013 19;501:328–37.
- Burrell RA, McGranahan N, Bartek J, Swanton C. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature* 2013 19;501:338–45.

26. Lobo NA, Shimono Y, Qian D, Clarke MF. The Biology of Cancer Stem Cells. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 2007;23:675–99.
27. Dovey MC, Zon LI. Defining cancer stem cells by xenotransplantation in zebrafish. *Methods Mol Biol* 2009;568:1–5.
28. Cheng L, Ramesh AV, Flesken-Nikitin A, Choi J, Nikitin AY. Mouse Models for Cancer Stem Cell Research. *Toxicol Pathol* 2010 1;38:62–71.
29. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 2011 3;144:646–74.
30. Kucia M, Ratajczak MZ. Stem cells as a two edged sword—from regeneration to tumor formation. *J Physiol Pharmacol* 2006;57 (Suppl 7):5–16.
31. Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nat Rev Cancer* 2008;8:755–68.
32. Vescovi AL, Galli R, Reynolds BA. Brain tumour stem cells. *Nat Rev Cancer* 2006;6:425–36.
33. Adams JM, Strasser A. Is Tumor Growth Sustained by Rare Cancer Stem Cells or Dominant Clones? [Internet]. [cited Oct 24, 2014]. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org>
34. Dalerba P, Cho RW, Clarke MF. Cancer stem cells: models and concepts. *Annu Rev Med* 2007;58:267–84.
35. Chen K, Huang Y, Chen J. Understanding and targeting cancer stem cells: therapeutic implications and challenges. *Acta Pharmacol Sin* 2013;34:732–40.
36. Greve B, Kelsch R, Spaniol K, Eich HT, Götte M. Flow cytometry in cancer stem cell analysis and separation. *Cytometry* 2012 1;81A:284–93.
37. Komuro H, Saihara R, Shinya M, Takita J, Kaneko S, Kaneko M, et al. Identification of side population cells (stem-like cell population) in pediatric solid tumor cell lines. *J Pediatr Surg* 2007;42:2040–5.
38. Christgen M, Ballmaier M, Lehmann U, Kreipe H. Detection of putative cancer stem cells of the side population phenotype in human tumor cell cultures. *Methods Mol Biol* 2012;878:201–15.
39. Liu W-D, Zhang T, Wang C-L, Meng H-M, Song Y-W, Zhao Z, et al. Sphere-forming tumor cells possess stem-like properties in human fibrosarcoma primary tumors and cell lines. *Oncol Lett* 2012;4:1315–20.
40. Pastrana E, Silva-Vargas V, Doetsch F. Eyes Wide Open: A Critical Review of Sphere-Formation as an Assay For Stem Cells. *Cell Stem Cell* 2011 6;8:486–98.
41. Moore N, Lyle S. Quiescent, Slow-Cycling Stem Cell Populations in Cancer: A Review of the Evidence and Discussion of Significance. *J Oncol* 2010 29;2011:e396076.
42. Xin H-W, Hari DM, Mullinax JE, Ambe CM, Koizumi T, Ray S, et al. Tumor-Initiating Label-Retaining Cancer Cells in Human Gastrointestinal Cancers Undergo Asymmetric Cell Division. *Stem Cells* 2012;30:591–8.
43. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994 17;367:645–8.
44. Chan W-I, Huntly BJP. Leukemia stem cells in acute myeloid leukemia. *Semin Oncol* 2008;35:326–35.
45. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 1;100:3983–8.
46. Abdullah LN, Chow EK-H. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells. *Clin Transl Med* 2013 17;2:1-9. doi:10.1186/2001-1326-2-3
47. Vinogradov S, Wei X. Cancer stem cells and drug resistance: the potential of nanomedicine. *Nanomedicine (Lond)* 2012;7:597–615.
48. Curiel TJ. Immunotherapy: a useful strategy to help combat multidrug resistance. *Drug Resist Updat* 2012;15:106–13.
49. Alkilany AM, Thompson LB, Boulos SP, Sisco PN, Murphy CJ. Gold nanorods: their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. *Adv Drug Deliv Rev* 2012;64:190-199.
50. Tsuruo T, Iida H, Tsukagoshi S, Sakurai Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res* 1981;41:1967–72.
51. Patil Y, Sadhukha T, Ma L, Panyam J. Nanoparticle-mediated simultaneous and targeted delivery of paclitaxel and tariquidar overcomes tumor drug resistance. *J Control Release* 2009 21;136:21–9.
52. Saeki T, Nomizu T, Toi M, Ito Y, Noguchi S, Kobayashi T, et al. Dofequidar fumarate (MS-209) in combination with cyclophosphamide, doxorubicin, and fluorouracil for patients with advanced or recurrent breast cancer. *J Clin Oncol* 2007 1;25:411–7.
53. Minderman H, O’Loughlin KL, Pendyala L, Baer MR. VX-710 (biricodar) increases drug retention and enhances chemosensitivity in resistant cells overexpressing P-glycoprotein, multidrug resistance protein, and breast cancer resistance protein. *Clin Cancer Res* 2004 1;10:1826–34.
54. McGowan PM, Simeone C, Ribot EJ, Foster PJ, Palmieri D, Steeg PS, et al. Notch1 inhibition alters the CD44hi/CD24lo population and reduces the formation of brain metastases from breast cancer. *Mol Cancer Res* 2011;9:834–44.

55. He B, Reguart N, You L, Mazieres J, Xu Z, Lee AY, et al. Blockade of Wnt-1 signaling induces apoptosis in human colorectal cancer cells containing downstream mutations. *Oncogene* 2005 21;24:3054–8.
56. Ramaswamy B, Lu Y, Teng K, Nuovo G, Li X, Shapiro CL, et al. Hedgehog signaling is a novel therapeutic target in tamoxifen-resistant breast cancer aberrantly activated by PI3K/AKT pathway. *Cancer Res* 2012 1;72:5048–59.
57. Feldmann G, Habbe N, Dhara S, Bisht S, Alvarez H, Fendrich V, et al. Hedgehog inhibition prolongs survival in a genetically engineered mouse model of pancreatic cancer. *Gut* 2008;57:1420–30.
58. Karhadkar SS, Bova GS, Abdallah N, Dhara S, Gardner D, Maitra A, et al. Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. *Nature* 2004 7;431:707–12.
59. Bar EE, Chaudhry A, Lin A, Fan X, Schreck K, Matsui W, et al. Cyclopamine-mediated hedgehog pathway inhibition depletes stem-like cancer cells in glioblastoma. *Stem Cells* 2007;25:2524–33.
60. Feldmann G, Dhara S, Fendrich V, Bedja D, Beaty R, Mullendore M, et al. Blockade of hedgehog signaling inhibits pancreatic cancer invasion and metastases: a new paradigm for combination therapy in solid cancers. *Cancer Res* 2007 1;67:2187–96.
61. Fan L, Li F, Zhang H, Wang Y, Cheng C, Li X, et al. Co-delivery of PDTC and doxorubicin by multifunctional micellar nanoparticles to achieve active targeted drug delivery and overcome multidrug resistance. *Biomaterials* 2010;31:5634–42.
62. Konopleva M, Tabe Y, Zeng Z, Andreeff M. Therapeutic targeting of microenvironmental interactions in leukemia: mechanisms and approaches. *Drug Resist Updat* 2009;12:103–13.
63. Burger JA, Peled A. CXCR4 antagonists: targeting the microenvironment in leukemia and other cancers. *Leukemia* 2009;23:43–52.
64. Folkins C, Man S, Xu P, Shaked Y, Hicklin DJ, Kerbel RS. Anticancer therapies combining antiangiogenic and tumor cell cytotoxic effects reduce the tumor stem-like cell fraction in glioma xenograft tumors. *Cancer Res* 2007 15;67:3560–4.
65. Lee ES, Gao Z, Kim D, Park K, Kwon IC, Bae YH. Super pH-sensitive multifunctional polymeric micelle for tumor pH(e) specific TAT exposure and multidrug resistance. *J Control Release* 2008 7;129:228–36.
66. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997;3:730–7.

