

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.01262

· 综述 ·

## 结肠癌干细胞生物学特性研究进展

陈方军<sup>1,2</sup>, 刘玉兰<sup>1\*</sup>, 张育军<sup>1</sup>, 孙国平<sup>3</sup>

- 1. 北京大学人民医院消化科, 北京 100044
- 2. 安庆医药高等专科学校, 安庆 246052
- 3. 安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科, 合肥 230032

**[摘要]** 结肠癌干细胞(colon cancer stem cells, CCSCs)在肿瘤发生、增殖、转移以及化学抵抗中发挥重要作用。目前关于 CCSCs 标记物的研究较多,而对 CCSCs 增殖、转移、化学抵抗等生物学行为机制的报道较少。本文就近几年 CCSCs 生物学特性的相关机制研究作一综述,尤其重点阐述 microRNAs 对 CCSCs 的调控作用,为临床改善和提高结肠癌的诊断和治疗水平提供参考。

**[关键词]** 结肠癌;干细胞;细胞增殖;肿瘤转移;肿瘤抗药性

**[中图分类号]** R735.35 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)11-1262-05

### Biological characteristics of colon cancer stem cells: recent progress

CHEN Fang-jun<sup>1,2</sup>, LIU Yu-lan<sup>1\*</sup>, ZHANG Yu-jun<sup>1</sup>, SUN Guo-ping<sup>3</sup>

- 1. Department of Gastroenterology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China
- 2. Anqing Medical College, Anqing 246052, Anhui, China
- 3. Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui, China

**[Abstract]** Colon cancer stem cells (CCSCs) play key roles in tumor initiation, proliferation, metastasis, and chemoresistance. Currently a large number of reports focused on markers of CCSCs, with relative less reporting on CCSCs biological characteristics; proliferation, metastasis, and chemoresistance. This paper reviewed the current research on the biological behavior of CCSCs, with special attention paid on the regulatory effects of microRNAs on CCSCs, hoping to provide reference for improving the diagnosis and treatment of colon cancer.

**[Key words]** colonic neoplasms; stem cells; cell proliferation; neoplasm metastasis; neoplasm drug resistance

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(11):1262-1266]

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,存在于癌组织中的结肠癌干细胞(colon cancer stem cells, CCSCs)在肿瘤发生、增殖、转移以及化学抵抗过程中发挥重要作用。目前,大量研究主要集中在 CCSCs 标记物的筛选和确认方面,本文就近几年关于 CCSCs 生物学特性的相关机制作一综述,为临床结肠癌的诊断、治疗和预防提供参考。

### 1 CCSCs 的特征

CCSCs 是一小群具有无限增殖潜能的细胞,具有干细胞特性,可自我更新和形成不同分化程度的

肿瘤细胞,目前已被认为是肿瘤发生、增殖、转移和药物抵抗的重要因素。了解 CCSCs 的特征有助于筛选分离 CCSCs,从而进一步研究其与肿瘤相关的生物学行为。

1.1 CCSCs 与非 CCSCs 之间的转化 细胞类型的可塑性在特定条件下可引起肿瘤干细胞和非干细胞之间的相互转化。Schwitalla 等<sup>[1]</sup>发现在炎症肿瘤微环境中,核因子 NF-κB 通过活化的 Wnt 信号通路,诱导非干细胞去分化,从而使组织获得肿瘤发生的能力,而消除特定的肠上皮细胞 RelA/p65(NF-κB 亚单位)可阻断肠腺腺窝干细胞的扩增,表明体内炎

**[收稿日期]** 2014-04-11 **[接受日期]** 2014-10-22

**[基金项目]** 安徽省自然科学基金重点项目(KJ2014A147)。Supported by Key Project of Natural Science Project of Anhui Province (KJ2014A147)。

**[作者简介]** 陈方军, 博士生, 副教授。E-mail: chen\_fangjun@126.com

\* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 010-88325559, E-mail: liuyulan@pkuph.edu.cn

症环境对 CCSCs 的产生和去分化具有重要作用。Yang 等<sup>[2]</sup>则发现 CCSCs 和非 CCSCs 在正常和辐射环境中存在固有的相互转换和动态平衡, TGF- $\beta$ 1 通过激活上皮间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 在平衡中扮演重要角色。因此, 通过干预特定条件下非 CCSCs 向 CCSCs 转化, 可能对彻底清除癌细胞具有重要意义。

**1.2 CCSCs 标记物** 大量研究显示结肠癌细胞株可表达 CD133、CD29、CD24、CD166、Lgr5 和 ALDH<sup>[3-5]</sup> 等标记物, 这些标记物的表达可能与 *Hes1* 基因表达上调有关<sup>[6]</sup>。具有这些标记物的细胞群具有干细胞特征, 在体内外表现出显著的肿瘤生成、侵袭以及化学抵抗能力。进一步的研究发现, Lgr5 抗体在正常组织中不被染色, 在高分化肿瘤细胞中有单个或多达 4 个干细胞簇被染色, 在低分化肿瘤中有 9~81 个干细胞簇被染色, 提示 Lgr5 表达的改变与肿瘤等级的重构相关<sup>[7-8]</sup>。PHLDA1 (pleckstrin homology-like domain, family A, member 1) 在结肠癌组织中表达也很广泛, 在肿瘤侵袭的边缘常有增强表达和核定位。小干扰 RNA (siRNA) 介导的 PHLDA1 抑制可阻止癌细胞体外迁移, 锚定非依赖性生长和体内肿瘤生成, 提示 PHLDA1 可能也是潜在的人肠肿瘤细胞标记物<sup>[9]</sup>。另有研究发现, 白介素-22 (IL-22) 通过激活转录因子 STAT3 以及促进 H3K79 组蛋白甲基转移酶 DOT1L 生成, 诱导干细胞基因 *Nanog*、*Sox2*、*Pou5F1* 表达, 维持肿瘤干细胞特征及致瘤潜能<sup>[10]</sup>。

## 2 CCSCs 的增殖和转移

**2.1 CCSCs 增殖的相关机制** Yes 相关蛋白 (Yes-associated protein, Yap) 作为一种转录共激活因子, 其在癌组织中高表达是促使 CCSCs 增殖的必需因素。Zhou 等<sup>[11]</sup>观察了 71 份结肠癌病例组织, 发现有 68 份高表达 Yap, 36 个结肠癌细胞株中有 30 个高表达 Yap, 结果引起干细胞群扩大, 癌细胞增殖, 而消除 Yap 可减弱  $\beta$ -catenin 和 Notch 信号转导, 抑制细胞增殖和生存。在 HCT116 细胞株中, 同样发现表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 对维持干细胞增殖是必需的, 通过抑制 EGFR 自身磷酸化和下游信号通路蛋白 AKT、ERK 1/2, 可进而抑制 CCSCs 增殖, 诱导 CCSCs 凋亡<sup>[12]</sup>。锌指转录

因子 GATA6 是骨形成蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 通路重要调节因子, Whissell 等<sup>[13]</sup>发现其不但可促进 CCSCs 标记物 Lgr5 表达, 而且还抑制 BMP 信号通路, 阻止肿瘤细胞分化, 而敲除 GATA6 基因可提高 BMP 表达水平, 阻断肿瘤干细胞自我更新, 引发 CCSCs 终末分化、凋亡。此外, Lin 等<sup>[14]</sup>发现 ALDH(+)/CD133(+)CCSCs 表达高磷酸化 STAT3, 姜黄素则可抑制这种改变, 减少 STAT3 下游靶基因表达; Kantara 等<sup>[15]</sup>则发现, 通过 RNA 干扰抑制干细胞标记物 DCLK1 蛋白活性, 同样可增强姜黄素抗肿瘤的特性, 诱导 CCSCs 凋亡。

Shenoy 等<sup>[16]</sup>研究了结肠炎向癌转化 (colitis-to-cancer transition, CCT) 的机制, 从溃疡性结肠炎患者中分离了 ALDH(+)CCSCs, 发现 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活可使 CCSCs 表现出高度的克隆和致瘤潜能, 促使 CCT 的发生。另有研究显示在肿瘤微环境中, 炎性细胞因子 IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  可刺激小鼠 C26 CCSCs 群, 通过缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 信号通路高表达血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 促进肿瘤血管生成, 导致肿瘤生长<sup>[17]</sup>。而 IL-6 可通过影响 Notch-1 信号通路, 增强 HCT116 和 HT-29 细胞株 CCSCs 的增殖能力<sup>[18]</sup>。这些研究提示炎症改变了肿瘤微环境, 通过多种炎性因子与信号通路的交互作用, 导致肿瘤细胞逃避免疫监视, 最终引起肿瘤细胞增殖、转移和复发。

**2.2 CCSCs 转移的相关机制** 高迁移率蛋白 A1 (high mobility group A1, HMGA1) 是结肠癌细胞转移分子机制中关键的转录因子。Belton 等<sup>[19]</sup>发现在转基因小鼠中 HMGA1 可诱导 CCSCs 表达 Twist1 蛋白, 抑制 E-cadherin 的表达, 促进肿瘤转移发生, 而 HMGA1 的敲除可阻断肿瘤细胞的锚定非依赖性生长, 抑制体内肿瘤肝转移的发生。Pasto 等<sup>[20]</sup>发现 Delta 样配体 4 (DLL4) 激活 Notch 信号通路, 可导致干细胞标记物 MUSASHI (MSI-1) 表达增加, 而使用 Notch2/3 抗体可降低 MSI-1 水平, 增加 Notch 通路抑制因子 NUMB 的表达, 进而抑制肿瘤的转移。Zubeldia 等<sup>[21]</sup>将 Mc38-luc (TGF- $\beta$ 1) 细胞 (colon adenocarcinoma cells expressing luciferase pretreated with TGF- $\beta$ 1) 注射到小鼠脾脏, 发现

TGF- $\beta$ 1除了可促进原发肿瘤的生长,也促使了癌细胞的肝转移。这可能与 TGF- $\beta$ 1引起 Mc38 细胞 Smad2、Smad3 和 Smad1/5/8 活化,增强细胞侵袭和跨内皮迁移能力有关。

### 3 CCSCs 与化学治疗抵抗相关的机制

化学抵抗是结肠癌药物治疗效果低下的主要原因。Colak 等<sup>[22]</sup>研究显示 CCSCs 发生选择性化学治疗抵抗与线粒体诱导效应降低有关,通过使用 BH3 类似物 ABT-737 和 WEHI-539 可抑制抗凋亡蛋白 Bcl-xL 活性,降低线粒体内膜去极化阈值,提高化学治疗敏感性,增强化学治疗效果。Van Houdt 等<sup>[23]</sup>发现凋亡蛋白抑制剂 BIRC6 是结肠癌伴肝转移患者 CCSCs 对奥沙利铂和顺铂抵抗的重要调节因子,针对 BIRC6 的治疗有助于消除 CCSCs。另有研究显示,表达同源异型盒基因 *cdx1* 的 SW1222 细胞株对紫杉醇诱导的细胞毒性有显著抵抗,这与 *cdx1*、Bcl-2 的表达、caspase-3 活力、LC3-II/LC3-I 的比例上调有关,*cdx1* 的静默和溶酶体抑制剂 bafilomycinA 的治疗能提高紫杉醇诱导的细胞毒性,瘤内注射 *cdx1* siRNA 能显著抑制接种了 *cdx1* 癌细胞的移植瘤生长<sup>[24]</sup>。Inoda 等<sup>[25]</sup>将表达特异肿瘤抗原蛋白 Cep55/c10orf3\_193 的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTL)克隆 41 过继转移,可显著抑制对化学治疗药物伊立替康、依托泊甙抵抗的 SW480 细胞株 CCSCs 的增殖,提示以 Cep55/c10orf3\_193 蛋白为基础的癌症疫苗治疗或者 CTL 过继转移是治疗有化学抵抗 CCSCs 的一种可行途径。

### 4 MicroRNAs(miRNAs)对 CCSCs 的调控

MiRNAs 是一种内源性非编码 RNA,通过结合靶基因 mRNA 的 3'-UTR 在转录后水平调节基因表达。Fang 等<sup>[26]</sup>测定了 SW1116 细胞株 CD133(+)/CD44(+)CCSCs 中 31 种上调和 31 种下调的 miRNAs,如 miR29a、miR29b、miR449b、miR4524 等,基因本体和通路分析显示这些表达差异与 CCSCs 的细胞周期功能、细胞分化、信号通路、细胞骨架蛋白、细胞基质黏附紧密相关,提示 miRNAs 在调控 CCSCs 增殖、分化和转移等方面扮演重要角色。

Ascl2 是一种 bHLH(basic helix-loop-helix)转录因子,在结肠癌组织中显著表达,Zhu 等<sup>[27]</sup>在 HT-29 细胞株 CCSCs 中使用 shRNA 干扰导致 Ascl2 表达下降,减弱了癌细胞集落形成、侵袭迁移能力,表达干细胞特征的相关基因 CD133、Sox2、Oct4、Lgr5、Bmi1 和 C-myc 水平也显著降低。而通过 miR-302b mimic 可恢复 shRNA-Ascl2/HT-29 肿瘤球形成、侵袭等细胞行为以及干细胞特征相关基因的表达,提示 Ascl2 可能是抑制 CCSCs 的潜在靶点,miR-302b 在这个过程中发挥重要作用。在 HCT-15CD44(+)CCSCs 中,Ju 等<sup>[33]</sup>发现通过激活透明质酸(hyaluronan, HA)/CD44 信号通路,可促使转录因子 Snail 与 miR-203 启动子区 E-盒(E-box)结合,引起 miR-203 表达下调,导致 CD44(+)CCSCs 呈现明显的干细胞特征以及侵袭、转移、分化能力。Xu 等<sup>[29]</sup>通过联机 miRNA 靶点预测数据库分析发现,肿瘤抑制因子 RhoBTB1 是 miR-31 的一个新靶点,在人结肠癌 HT-29 CCSCs 中 RhoBTB1 被 miR-31 直接抑制而显著降低表达,提示 miR-31 与结肠肿瘤发生相关。miR-21 在不同条件下可发挥致癌基因或抑癌基因双重功能,但在 CCSCs 中的作用却并不明确。Yu 等<sup>[30]</sup>通过稳定转染使富含 CCSCs 的细胞株 HCT116 过度表达 miR-21,发现可引起 TGF- $\beta$ 2(transforming growth factor beta 2)受体(TGF- $\beta$ 2)下调,降低了与 miR-21 结合的 TGF- $\beta$ 2 3'-UTR 活性,导致肿瘤球形成能力增强,提示 miR-21 可通过 TGF- $\beta$ 2 发挥致癌作用。同样在 SW116CCSCs 中,Yu 等<sup>[31]</sup>发现 miR-93 类似物可通过 Wnt、NF- $\kappa$ B、Notch 信号通路的相互作用显著降低组蛋白去乙酰化酶 8(histone deacetylase8, HDAC8)和 TLE4 mRNA 和蛋白水平,从而抑制 CCSCs 增殖。

葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)是一种重要的内质网分子伴侣和信号调节因子,在肿瘤中常过度表达,导致肿瘤发生和化学抵抗。Su 等<sup>[32]</sup>通过慢病毒转染技术,使结肠癌 HCT116 细胞株中 miR-30d、miR-181a、miR-199a-5p 表达增高,发现它们可共同作用于 GRP78 的 3'-UTR,导致 GRP78 表达下调,诱导肿瘤细胞凋亡,增强肿瘤细胞对化学治疗药物的敏感性。Bitarte 等<sup>[32]</sup>观察了具有干细胞特征的结肠癌球,发现 miR-451 表达下调不但引起靶基因

COX-2 和巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 表达增高, 激活 Wnt 信号通路, 促使 CCSCs 增殖, 同时还上调 ATP 结合盒 B 亚家族成员 1 (ABCB1) 基因表达, 导致癌细胞对伊立替康不敏感, 提示 miR-451 也是抑制结肠癌发生和药物抵抗的一个重要因素。

## 5 结 语

CCSCs 在结肠癌发生发展的各个阶段均发挥重要作用。虽然目前对于 CCSCs 标记物的研究取得较大进展, 但对导致肿瘤干细胞增殖、转移、化学抵抗等生物学行为的相关机制还不甚清楚, 可能涉及到肿瘤微环境、细胞器、信号通路的交互影响以及基因突变等诸多因素。进一步深入研究影响 CCSCs 生物学行为的细胞分子机制将有助于临床提高肿瘤诊断、治疗效果, 为预测肿瘤预后提供新的标记物。而关于 miRNAs 对 CCSCs 生物学行为调控机制的研究则为阐明肿瘤发病机制提供了新途径。

## 6 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

## [参 考 文 献]

- [1] Schwitalla S, Fingerle A A, Cammareri P, Nebelsiek T, Göktuna S I, Ziegler P K, et al. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties[J]. *Cell*, 2013, 152(1-2): 25-38.
- [2] Yang G, Quan Y, Wang W, Fu Q, Wu J, Mei T, et al. Dynamic equilibrium between cancer stem cells and non-stem cancer cells in human SW620 and MCF-7 cancer cell populations[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106: 1512-1519.
- [3] Zou J, Yu X F, Bao Z J, Dong J. Proteome of human colon cancer stem cells: a comparative analysis[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17: 1276-1285.
- [4] Duan X, Li H, Chen H, Wang Q. Discrimination of colon cancer stem cells using noncanonical amino acid[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2012, 48: 9035-9037.
- [5] Ke J, Wu X, Wu X, He X, Lian L, Zou Y, et al. A subpopulation of CD24 cells in colon cancer cell lines possess stem cell characteristics[J]. *Neoplasma*, 2012, 59: 282-288.
- [6] Gao F, Zhang Y, Wang S, Liu Y, Zheng L, Yang J, et al. Hes1 is involved in the self-renewal and tumorigenicity of stem-like cancer cells in colon cancer[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 3963.
- [7] Amsterdam A, Raanan C, Schreiber L, Freyhan O, Fabrikant Y, Melzer E. Use of multiple biomarkers for the localization and characterization of colon cancer stem cells by indirect immunocytochemistry[J]. *Int J Oncol*, 2012, 41: 285-291.
- [8] Kobayashi S, Yamada-Okabe H, Suzuki M, Natori O, Kato A, Matsubara K, et al. LGR5-positive colon cancer stem cells interconvert with drug-resistant LGR5-negative cells and are capable of tumor reconstitution[J]. *Stem Cells*, 2012, 30: 2631-2644.
- [9] Sakthianandeswaren A, Christie M, D'Andreti C, Tsui C, Jorissen R N, Li S, et al. PHLDA1 expression marks the putative epithelial stem cells and contributes to intestinal tumorigenesis[J]. *Cancer Res*, 2011, 71: 3709-3719.
- [10] Kryczek I, Lin Y, Nagarsheth N, Peng D, Zhao L, Zhao E, et al. IL-22(+)CD4(+) T cells promote colorectal cancer stemness via STAT3 transcription factor activation and induction of the methyltransferase DOT1L[J]. *Immunity*, 2014, 40: 772-784.
- [11] Zhou D, Zhang Y, Wu H, Barry E, Yin Y, Lawrence E, et al. Mst1 and Mst2 protein kinases restrain intestinal stem cell proliferation and colonic tumorigenesis by inhibition of Yes-associated protein (Yap) overabundance[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: E1312-E1320.
- [12] Feng Y, Dai X, Li X, Wang H, Liu J, Zhang J, et al. EGF signalling pathway regulates colon cancer stem cell proliferation and apoptosis[J]. *Cell Prolif*, 2012, 45: 413-419.
- [13] Whissell G, Montagni E, Martinelli P, Hernando-Mombona X, Sevillano M, Jung P, et al. The transcription factor GATA6 (GATA-binding factor 6 (GATA6)) enables self-renewal of colon adenoma stem cells by repressing BMP gene expression[J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16: 695-707.
- [14] Lin L, Liu Y, Li H, Lin H J, Li P K, Li C, et al. Targeting colon cancer stem cells using a new curcumin analogue, GO-Y030[J]. *Br J Cancer*, 2011, 105: 212-220.
- [15] Kantara C, O'Connell M, Sarkar S, Moya S, Ullrich R, Singh P. Curcumin promotes autophagic survival of a subset of colon cancer stem cells, which are ablated by DCLK1-siRNA[J]. *Cancer Res*, 2014, 74: 2487-2498.
- [16] Shenoy A K, Fisher R C, Butterworth E A, Pi L, Chang

- L J, Appelman H D, et al. Transition from colitis to cancer; high Wnt activity sustains the tumor-initiating potential of colon cancer stem cell precursors[J]. *Cancer Res*, 2012, 72: 5091-5100.
- [17] Liu Y, Han Z P, Zhang S S, Jing Y Y, Bu X X, Wang C Y, et al. Effects of inflammatory factors on mesenchymal stem cells and their role in the promotion of tumor angiogenesis in colon cancer [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 25007-25015.
- [18] Lin J T, Wang J Y, Chen M K, Chen H C, Chang T H, Su B W, et al. Colon cancer mesenchymal stem cells modulate the tumorigenicity of colon cancer through interleukin 6[J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319: 2216-2229.
- [19] Belton A, Gabrovsky A, Bae Y K, Reeves R, Iacobuzio-Donahue C, Huso D L, et al. HMGA1 induces intestinal polyposis in transgenic mice and drives tumor progression and stem cell properties in colon cancer cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e30034.
- [20] Pasto A, Serafin V, Pilotto G, Lago C, Bellio C, Trusolino L, et al. NOTCH3 signaling regulates MUSASHI-1 expression in metastatic colorectal cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2014, 74: 2106-2118.
- [21] Zubeldia I G, Bleau A M, Redrado M, Serrano D, Agliano A, Gil-Puig C, et al. Epithelial to mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes leading to liver metastasis are abrogated by the novel TGF $\beta$ 1-targeting peptides P17 and P144[J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319: 12-22.
- [22] Colak S, Zimmerlin C D, Fessler E, Hogdal L, Prasetyanti P R, Grandela C M, et al. Decreased mitochondrial priming determines chemoresistance of colon cancer stem cells[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21: 1170-1177.
- [23] Van Houdt W J, Emmink B L, Pham T V, Piersma S R, Verheem A, Vries R G, et al. Comparative proteomics of colon cancer stem cells and differentiated tumor cells identifies BIRC6 as a potential therapeutic target[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10: M111. 011353.
- [24] Wu S, Wang X, Chen J, Chen Y. Autophagy of cancer stem cells is involved with chemoresistance of colon cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 434: 898-903.
- [25] Inoda S, Hirohashi Y, Torigoe T, Morita R, Takahashi A, Asanuma H, et al. Cytotoxic T lymphocytes efficiently recognize human colon cancer stem-like cells[J]. *Am J Pathol*, 2011, 178: 1805-1813.
- [26] Fang Y, Xiang J, Chen Z, Gu X, Li Z, Tang F, et al. miRNA expression profile of colon cancer stem cells compared to non-stem cells using the SW1116 cell line [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28: 2115-2124.
- [27] Zhu R, Yang Y, Tian Y, Bai J, Zhang X, Li X, et al. Ascl2 knockdown results in tumor growth arrest by miRNA-302b-related inhibition of colon cancer progenitor cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e32170.
- [28] Ju S Y, Chiou S H, Su Y. Maintenance of the stemness in CD44(+) HCT-15 and HCT-116 human colon cancer cells requires miR-203 suppression [J]. *Stem Cell Res*, 2014, 12: 86-100.
- [29] Xu R S, Wu X D, Zhang S Q, Li C F, Yang L, Li D D, et al. The tumor suppressor gene RhoBTB1 is a novel target of miR-31 in human colon cancer [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42: 676-682.
- [30] Yu Y, Kanwar S S, Patel B B, Oh P S, Nautiyal J, Sarkar F H, et al. MicroRNA-21 induces stemness by downregulating transforming growth factor beta receptor 2 (TGF $\beta$ 2) in colon cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33: 68-76.
- [31] Yu X F, Zou J, Bao Z J, Dong J. miR-93 suppresses proliferation and colony formation of human colon cancer stem cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17: 4711-4717.
- [32] Su S F, Chang Y W, Andreu-Vieyra C, Fang J Y, Yang Z, Han B, et al. miR-30d, miR-181a and miR-199a-5p cooperatively suppress the endoplasmic reticulum chaperone and signaling regulator GRP78 in cancer[J]. *Oncogene*, 2013, 32: 4694-4701.
- [33] Bitarte N, Bandres E, Boni V, Zarate R, Rodriguez J, Gonzalez-Huarriz M, et al. MicroRNA-451 is involved in the self-renewal, tumorigenicity, and chemoresistance of colorectal cancer stem cells[J]. *Stem Cells*, 2011, 29: 1661-1671.