

【総説】

放射線治療に関わる癌幹細胞

細川洋一郎*¹ 嗟峨 涼*¹ 長谷川和輝*¹ 大内健太郎*² 奥村一彦*²

(2019年10月8日受付, 2019年12月23日受理)

要旨: 悪性腫瘍を構成する細胞は、等しく腫瘍形成能を有するものではなく、少数の癌幹細胞と呼ばれる細胞が存在し、自己複製能と分化能を保持しながら、腫瘍を構成する大多数の癌細胞を供給するという、癌幹細胞システムの概念が一般化しつつある。この癌幹細胞を解明することにより、従来の放射線治療で起こる、腫瘍の再発や転移および放射線治療抵抗性の獲得等、癌の生物学的特性に深く関連した諸問題を克服できる可能性があるため、癌幹細胞を同定してそれを標的とする研究が活発になっている。本稿では、癌幹細胞の研究の歴史、癌幹細胞の発生源とその同定方法、癌幹細胞内のシグナル伝達などの癌幹細胞の性質と放射線に対する癌幹細胞の影響について紹介した後、今後の放射線治療における癌幹細胞研究の戦略について概説した。

キーワード: 癌幹細胞, 放射線治療, 放射線抵抗性, 転移, 上皮間葉転換

I. はじめに

放射線治療は、癌治療法の柱の1つであり、近年ではその治療機器の高度化による物理的線量分布の高精度化から、適応が増加し続けている¹⁾。放射線治療による癌治療は、基本的に、癌細胞が損傷を受けたDNAを修復する能力に限られており、正常組織よりも放射線に対して感受性が高いという理論に基づいている^{2,3)}。しかしながら、癌の生物学的複雑性および不均一性により、放射線治療に対する抵抗性細胞も少なからず存在し、特に臨床上重要なことは、この放射線抵抗性細胞の成立が、多くの患者において、治療後の癌の再発および転移をもたらすことである^{4,5)}。そして、腫瘍内に存在する小集団癌細胞である癌幹細胞が、さまざまな癌の種類における放射線抵抗性および転移に関与していることが報告されている⁶⁾。対照的に、癌幹細胞ではない腫瘍領域の多くを占める非癌細胞は、放射線に敏感であると仮定されており、放射線治療により腫瘍は縮小する。また、今日までの知見から、放射線が癌幹細胞を残存させ、腫瘍の再発と転移を増強する可能性があることも示唆されている^{5,7,8)}。したがって癌治療における、生物学的アプローチによる放射線治療の目標の一つは、癌幹細胞の撲滅にかかっていると見てよい^{9,10)}。本総説では癌幹細胞の研究の歴史、および放射線に対する癌幹細胞の研究について概説する。なお現在の放射線治療の主体は直線加速器による高エネルギーX線による治療であり、従って癌幹細胞に対する放射線影響の研究論文もX線あるいはγ線を使用したものが多い。本総説において取り上げた放射線に関する論文は、特に断りがない場合はX線あるいはγ線による研

究成果である。

II. 癌幹細胞の概念

癌幹細胞は、自己複製能を示す、腫瘍内部の癌細胞の小集団と定義される。また癌幹細胞は、異種癌細胞にも分化可能で、その為、癌は不均一な細胞集団から形成されていると考えられている¹¹⁾。癌幹細胞の仮想上の概念が、1800年代にVirchowやCohnheimによりすでに提唱されている^{12,13)}。しかし、癌幹細胞が実験的に単離されたのは、それから100年あまり経過してからのことで、Lapidotらが白血病の癌幹細胞を1994年に初めて単離した¹⁴⁾。この結果は、単に癌幹細胞を単離したということに留まらず、癌集団における細胞の不均一性が確認され、さらに腫瘍が階層的に組織化されているという仮説を生み出した^{15,16)}。現在考えられている仮説によれば、癌は正常組織の階層的組織分化を反映しており、腫瘍内における階層の上流に癌幹細胞が存在する¹⁷⁾。そして腫瘍内は、癌幹細胞による自己複製による癌幹細胞と、癌幹細胞の異種分化により引き起こされた非癌幹細胞により構成され、この非癌幹細胞の増殖能は低く、従って腫瘍形成能を失うと考えられている^{18,19)}。このように正常組織発生と同様に階層的分化をするのであれば、腫瘍内においても、エピジェネティックで後天的なシグナル伝達経路が、この階層的分化の構造的および組織的調節をしていると推察される。

それではこの癌幹細胞を、どのように同定するのか説明する。前段の仮説から推測されるように、腫瘍内の細胞を採取して、表面抗原を検索しても、どの細胞が増殖能を有しているか不明であるから、それだけでは癌幹細胞を特定することはできない。そこでLapidotはヒト急性骨髄性白血病(AML)において、免疫不全マウスへ癌細胞を移植し、疾患を再現する能力を研究することで癌幹細胞を特定し、CD34陽性/CD38陽性細胞が癌幹細胞であると推測した¹⁴⁾。

*1 弘前大学 Hirosaki university
〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-33-5111
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan

*2 北海道医療大学 Health Sciences University of Hokkaido
〒061-0293 北海道石狩郡金沢 1757 TEL:01133-23-1200
1757 Kanazawa, Tobetsu-cho, Ishikari-gun, Hokkaido, 061-0293, Japan
Correspondence Author hosokawa@hirosaki-u.ac.jp

また固形癌では、同様の方法で2003年に乳癌の癌幹細胞はCD133陽性細胞であると報告されている²⁰⁾。そしてその後、脳腫瘍、前立腺癌および非小細胞肺癌の癌細胞もCD133陽性細胞であるとする研究が続いて発表されている²¹⁻²³⁾。癌幹細胞は自己複製能を有するので、高いクローン形成性を有し、免疫不全状態にある実験動物における腫瘍再現性実験は根拠があるが、現在のところ、すべての腫瘍において、癌幹細胞が明確に判定される表面抗原の特定はなされていない。例えば、いくつかの神経膠腫では、CD133陽性を示す腫瘍細胞と、CD133陰性を示す腫瘍細胞のどちらも、癌幹細胞の定義を満たすという現象もみられる²⁴⁾。しかしこれらの例外や矛盾がみられても、癌幹細胞特定のために表面抗原は、マーカーとして広く利用されており、現在、癌幹細胞の単離に多く使用されているのはCD24, CD34, CD38, CD44, CD90, CD133である²⁵⁻²⁷⁾。

また最近 aldehyde dehydrogenase (ALDH) の発現および活性が、癌幹細胞のマーカーであることが報告されている。ALDH は、ヒトにおいて発現するイソ酵素ファミリーで、Kastan は ALDH1 が CD34 陽性造血前駆細胞で上昇することを示している²⁸⁾。また、Ginestier は乳癌細胞の ALDH1 の活性および表面抗原を検討し、CD24 陰性、CD44 陽性、高 ALDH1 を示す乳癌細胞が、わずか20個でも腫瘍を形成することを示した。さらに、ALDH1 を発現した乳癌は、臨床予後が不良であることも報告されている²⁹⁾。乳癌以外にも ALDH1 活性は頭頸部扁平上皮癌、結腸癌、および肺癌を含む、他の固形腫瘍におけるマーカーとして使用されている²⁰⁻³²⁾。表1に各がんと対応する癌幹細胞マーカーについて示す。

癌幹細胞の起源は議論があり今後の解明が待たれる。成体内の正常組織の幹細胞の形質転換、正常組織の幹細胞と癌細胞の細胞融合、アポトーシス細胞から正常幹細胞への遺伝子導入、正常組織幹細胞における遺伝子変異等、癌幹細胞の起源に関するいくつかの仮説が今日までに提示されている⁴²⁾。ここでは、放射線による癌幹細胞誘導に最も関連すると考えられる上皮間葉転換説について概説する。

上皮間葉転換は胚発生に関与する独特の分化プロセスであり、それによって細胞は上皮の特徴を失い、間葉性を獲得する⁴³⁾。さらに上皮間葉転換細胞が間葉系幹細胞に似た、多系統に分化する能力を持つことが報告されている⁴⁴⁾。たとえば、Mani らは生体外実験において不死化されたヒト乳腺細胞に上皮間葉転換誘導を起こすと、幹細胞マーカーの発現が増加することを示した⁴⁵⁾。また、Morel は、正常ヒト上皮細胞が上皮間葉転換を経て、腫瘍形成性幹細胞が形成されるのを確認している⁴⁶⁾。上皮間葉転換は、食道、乳房、結腸、卵巣および甲状腺組織を含む多数の癌においても同定されている^{47, 48)}。これら癌で観察された上皮間葉転換を受けている細胞は、紡錘形態を示し、細胞極性の喪失、タイトジャンクションの消失、上皮細胞マーカーで

ある E カドヘリンの下方制御、などの正常組織の発生的上皮間葉転換を受けた細胞と類似の特徴があり、より侵襲性、転移性で、治療に対して抵抗性を示す⁴⁹⁾。

すなわち上皮間葉転換を受けた細胞は、幹細胞の性質を獲得し、DNA 修復に関わるシグナル伝達経路を活性化し、抗アポトーシス性を示す。このような抵抗性の獲得は、上皮間葉転換により誘導される Snail, Slug, E-box-binding homeobox (ZEB) 等の転写因子と関連があることが報告されている^{50, 51)}。また、腫瘍における上皮間葉転換マーカーの発現増加は癌治療後の遠隔転移および予後不良と関連しており、上皮間葉転換は腫瘍の進行および攻撃性を促進すると仮定され、これらの結果から上皮間葉転換と癌幹細胞の関連が重要視されている⁵²⁾。

表1 がんにおける癌幹細胞マーカー

腫瘍の種類	癌幹細胞マーカー	文献
肺癌	CD44+/D133+/ALDH1+	32
悪性黒色腫	ABC5+, CD133+	33
乳癌	CD44+/CD24-/low, CD133+	33,34, 35
大腸癌	CD44+, CD133+, EpCAM+	33,35,37
脳腫瘍	CD133+, CD15+, CD49f+, CD90+	33,35,38
前立腺癌	CD44+/CD133+	39
頭頸部癌	CD44+/ALDH1+	30
膵臓癌	CD44+/CD24+/ESA+, CD133+/CXCR4+	40,41
急性骨髄性 白血病	CD34+/CD38+ CD34+/CD38-, CD123+	14 33,35,36

CD: cluster of differentiation

ALDH: aldehyde dehydrogenase

ABC5: ATP-binding cassette, sub-family B

EpCAM: Epithelial cell adhesion molecule

ESA: epithelial specific antigen

CXCR: CXC chemokine receptor

III. 放射線照射と上皮間葉転換

最近多くの研究が、放射線照射により上皮間葉転換を誘導する可能性があることを示唆している⁵³⁻⁵⁵⁾。例えば、放射線抵抗性食道癌細胞株である KYSE-150R 細胞では、E カドヘリンの減少や Snail および Twist の発現の増加など、上皮間葉転換と同様の細胞変化が、放射線によって引き起こされるのが観察されている⁵⁶⁾。その他、放射線照射が、癌細胞の上皮間葉転換に寄与する多くの経路調節に関わることが報告されており、肺癌細胞では放射線照射が、Janus kinase 2, p21-activated kinase 1, Snail のシグナル伝達経路を調整し、上皮間葉転換を増加させること示している⁵⁷⁾。さらに子宮頸癌細胞を用いた研究では、低線量

の放射線が nuclear factor-kappa B (NF- κ B)の経路を活性化することが示され、その結果として子宮頸癌細胞に上皮間葉転換が生じていることが報告されている⁵⁸⁾。また、上皮間葉転換は、Tumor Necrosis Factor α (TNF α)、Tumor Growth Factor β (TGF β)、インターロイキンのような炎症誘発性シグナル伝達物質を含む様々な経路によって調節されており、放射線照射によりこれらの経路の活性化が起こり、上皮間葉転換が誘導される⁵⁹⁾。

上皮間葉転換によって間葉性を獲得した癌細胞が治療に対してより耐性であることも示されており、このことは、放射線誘発上皮間葉転換が癌細胞に放射線抵抗性を生じさせる可能性があることを意味する。Changらは、放射線治療後に上皮間葉転換を示す前立腺癌細胞が放射線に対してより抵抗性になることを明らかにしており⁶⁰⁾、同様の結果が、膵臓癌⁶¹⁾、結腸直腸癌⁶²⁾、乳癌⁶³⁾、肺癌⁶⁴⁾、上咽頭癌⁶⁵⁾、肝癌⁶⁶⁾、胃癌⁶⁷⁾でも報告されている。また、放射線により誘導される上皮間葉転換は乳癌、肺癌、肝臓癌、脳腫瘍で癌細胞の遊走性および浸潤性を亢進するのが基礎研究⁶⁸⁻⁷¹⁾ならびに臨床研究で示されている⁷²⁻⁷⁴⁾。一方で、転移や浸潤に関わる上皮間葉転換を標的とした治療により、放射線増感効果及び浸潤阻害効果が得られることが基礎研究にて報告されている^{75,76)}。

以上のような放射線照射による癌の上皮間葉転換発生の機序の一つに、活性酸素種 (ROS) の存在が挙げられる。活性酸素は腫瘍形成および腫瘍進行と密接に関係するとともに、腫瘍細胞の増殖と死を調節するシグナル伝達分子として作用する⁷⁷⁾。また活性酸素は、腫瘍形成を誘発し、腫瘍進行を持続させる細胞内シグナル伝達におけるセカンドメッセンジャーとして作用し、放射線誘導性上皮間葉転換においても重要な役割を果たすことが知られている^{78,79)}。高レベルの活性酸素は、タンパク質、核酸、脂質などの細胞成分に不可逆的な損傷を与えることで細胞死を引き起こすが、低レベルの活性酸素は腫瘍の進行、浸潤、転移を含む腫瘍の進行を促進し、活性酸素誘導性細胞傷害を阻害するために抗酸化タンパク質を誘導することが明らかにされている⁸⁰⁻⁸²⁾。したがって、放射線治療の結果を考察する場合、活性酸素の関与は重要で、これまでの研究から活性酸素は、癌細胞が放射線照射による、腫瘍不適環境を回避できるように上皮間葉転換を促進していると考えられている⁸³⁾。

IV. 放射線照射による癌幹細胞の発生について

前述したように、腫瘍隕内において癌幹細胞は放射線抵抗性であるが小集団であり、癌幹細胞により分化増殖した非癌幹細胞は放射線感受性であることから、放射線治療により腫瘍隕は縮小する。その過程において、腫瘍内では非癌幹細胞は減少し、癌幹細胞残存により、その割合が増加することになる。Wangらは、ヒト前立腺癌細胞培養におい

て、前立腺癌幹細胞の割合が、放射線曝露後に著しく増加したことを実証し、放射線がアポトーシスを誘発することによって培養中の放射線感受性非癌細胞を減少させ、それが放射線抵抗性癌幹細胞の濃縮をもたらしたと考察した⁸⁴⁾。またAl-Assarらは、乳癌の癌幹細胞マーカーであるCD24陰性の乳癌細胞割合が、放射線照射後に増加したと報告している⁸⁵⁾。

しかし、放射線抵抗性である癌幹細胞が、放射線照射により単に残存するだけではなく、放射線により非癌細胞が癌幹細胞に移行する知見が最近報告されている。Lagadecは、初めに乳癌細胞からALDH1染色後、蛍光色素選別法を用いて、ALDH1に染色されない非癌幹細胞を単離し、これら非癌幹細胞に放射線照射を行ったところ、癌幹細胞が誘導されていることを発見した。そして、その癌幹細胞は腫瘍形成性の増加ならびに放射線抵抗性を示し、さらに元の非照射サンプルから得られた癌幹細胞と、同じ癌幹細胞性関連遺伝子を発現していた⁸⁶⁾。この研究は、放射線が非癌幹細胞から癌幹細胞が誘導されることを明確に示しており、このことは、癌細胞における分化過程は一方でないことを示している(図1.)。

癌幹細胞内のシグナル伝達経路は多用であり、癌幹細胞に特異的あるいは特徴的なシグナル伝達は解明されておらず、未だ不明な点が多い⁸⁷⁾。従って、癌幹細胞誘導において主導的な役割を果たすシグナルは明らかにされていない。その中で癌幹細胞が誘導された注目すべき研究を挙げると、脳腫瘍においては、癌幹細胞は腫瘍内の血管周囲に多く存在しており、血管内皮増殖因子 (VEGF) は低酸素状態において上昇することが知られている⁸⁸⁾。Richは神経膠腫細胞において、低酸素状態が非癌幹細胞 (CD133陰性) から癌幹細胞 (CD133陽性) に誘導することを示した⁸⁹⁾。Murataは前立腺癌細胞に対する分割照射により多能性関連遺伝子であるOCT4及びNANOGのmRNA発現が上昇し、CD44、CD133及びCD138の発現が誘導されることを示唆した⁹⁰⁾。また、Hiopoulousは、患者から採取した乳癌および前立腺癌の細胞株において、インターロイキン6が上皮間葉転換をおこし、非癌幹細胞を癌幹細胞に移行することを報告している⁹¹⁾。放射線照射による研究では、乳癌細胞におけるNF- κ Bの発現は、放射線照射により上昇したが、NF- κ Bを阻害すると、癌幹細胞誘導が遮断されたことから、NF- κ B経路が乳癌幹細胞の放射線誘導に関与していることが示唆されている⁹²⁾。

一方、上皮間葉転換とその逆のプロセスである間葉上皮転換という現象があることが知られており、これらの過程が制御されて生じることにより、組織や臓器の形成や損傷組織の再構築などが行われる。しかし、この2つの過程の制御に異常が発生すると、腫瘍の発生や転移を引き起こすと推察されている⁹³⁾。Liuは、乳癌には2つの異なる癌細胞グループがあることを報告している。それは(1)腫瘍の

低酸素領域に見られる上皮表現型を持つ ALDH1 陽性集団および (2) 浸潤性前面の細胞の CD24 陰性/CD44 陽性の間葉表現型を示す集団である。そして両方の個体群が上皮間葉転換と間葉上皮転換の遷移を介して、互いに変換できるということを実験結果で示している⁹⁴⁾。

以上、これらの研究は、癌幹細胞および非癌細胞の分化は、一方向ではなく指向性であることを示している。このことは、放射線照射された癌が生き残るため、癌幹細胞の消滅を補うために、非癌幹細胞が癌幹細胞に移行すると推測される⁹⁵⁾。

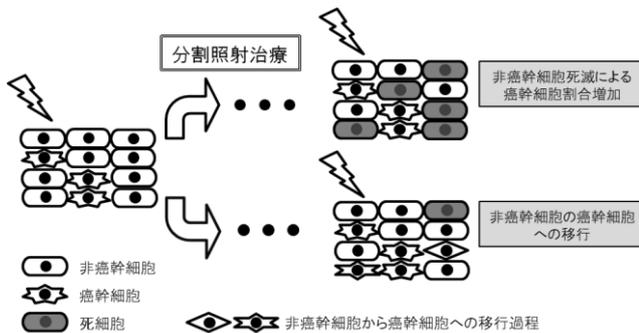


図 1. 放射線照射による癌幹細胞の発生

V. おわりに

以上述べてきたように、腫瘍内部には不均一で階層的な段階を持つ細胞が存在し、その頂点にある癌幹細胞は、増殖の性質を持ち、放射線抵抗性でしかも転移を起こす。放射線治療は、電離またはフリーラジカルの生成を介して DNA 損傷を誘発し腫瘍細胞を殺傷するが、上皮間葉転換の活性化を通じて、癌幹細胞の誘導を起こしていると考えられる⁹⁶⁻⁹⁸⁾。しかも放射線が非癌幹細胞を癌幹細胞に移行させることについての証拠が提示されており、このような観点から考察すると、癌に対する放射線治療には欠点が多いようにも見える。しかし臨床的には、大きな治療結果をもたらすのも事実であり、従って必要なことは、放射線に対する癌幹細胞の動態について研究し、治療効果をさらに向上させることである。

たとえば、この非癌幹細胞の癌幹細胞への移行の実験結果から推測すると、放射線治療の際に、抵抗性の癌幹細胞への移行速度が細胞殺傷速度を超える場合には、放射線治療は不可能になるかもしれない。逆に、この抵抗性の癌幹細胞への移行速度を遅くする、あるいは停止させるような治療法が開発されると、放射線治療において局所制御を向上させ、しかも転移防止に役立つと考えられる。従って、癌幹細胞を誘導する作用機序、分子生物学的シグナル伝達などの研究を重ね、放射線治療の有用性を高める治療法の開発につなげることが期待される。

VI. 利益相反 開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Narita Y, Kato T, et al.: Effect of anatomical change on dose distribution during radiotherapy for maxillary sinus carcinoma: passive scattering proton therapy versus volumetric-modulated arc therapy. *Br J Radiol*, 15:20180273, 2018.
- 2) Hosokawa Y, Monzen S, et al.: Effects of X-ray irradiation in combination with ascorbic acid on tumor control. *Mol Med Rep*, 12: 5449-4554, 2015.
- 3) Delaney G, Jaco S, et al.: The role of radiotherapy in cancer treatment: Estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines. *Cancer*, 104: 1129-1137, 2005.
- 4) Lee SY, Jeong EK, et al.: Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation. *Mol Cancer*, 16: 10, 2017.
- 5) Von Essen CF: Radiation enhancement of metastasis: A review. *Clin Exp Metastasis*, 9: 77-104, 1991.
- 6) Chen X, Liao R, et al.: Induced cancer stem cells generated by radiochemotherapy and their therapeutic implications. *Oncotarget*, 8: 17301-17312, 2017.
- 7) Wild-Bode C, Weller M, et al.: Sublethal irradiation promotes migration and invasiveness of glioma cells: Implications for radiotherapy of human glioblastoma. *Cancer Res*, 61: 2744-2750, 2001.
- 8) Biswas S, Guix M, et al.: Inhibition of TGF-beta with neutralizing antibodies prevents radiation-induced acceleration of metastatic cancer progression. *J Clin Invest*, 117: 1305-1313, 2007.
- 9) Diehn M, Clarke MF, et al.: Cancer stem cells and radiotherapy: New insights into tumor radioresistance. *J Natl Cancer Inst*, 98: 1755-1757, 2006.
- 10) Ryo Saga, Yusuke Matsuya, et al.: Analysis of the high-dose-range radioresistance of prostate cancer cells, including cancer stem cells, based on a stochastic model. *J. Radiat Res*, 60: 1-10, 2019.
- 11) Clarke MF, Dick J.E, et al.: Cancer stem cells-perspectives on current status and future directions: AACR workshop on cancer stem cells. *Cancer Res*, 66: 9339-9344, 2006.
- 12) Virchow R: Cellular-Pathologie. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*, 8: 3-39, 1855.
- 13) Cohnheim J: Congenitales, quergestreiftes Muskelsarkom der Nieren. *Virchows Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin*. 65:64-69, 1875.
- 14) Lapidot T, Sirard C, et al.: A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 367: 645-648, 1994.
- 15) Hemmati HD, Nakano I, et al.: Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100: 15178-15183, 2003.
- 16) Singh SK, Hawkins C, et al.: Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*, 432: 396-401, 2004.
- 17) Reya T, Morrison SJ, et al.: Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414: 105-111, 2001.
- 18) Lee HE, Kim JH, et al.: An increase in cancer stem cell population after primary systemic therapy is a poor prognostic factor in breast cancer. *Br J Cancer*, 104: 1730-1738, 2011.
- 19) Sugihara EI, Saya H.: Complexity of cancer stem cells. *Int J Cancer*, 132:1249-1259,2013.
- 20) Al-Hajj M, Wicha MS, et al.: Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 3983-3988, 2003.
- 21) Zannettino AC, Roubelakis M, et al.: Novel mesenchymal and haematopoietic cell isoforms of the SHP-2 docking receptor, PZR: identification, molecular cloning and effects on cell migration. *Biochem J*, 370: 537-549, 2003.
- 22) Singh SK, Clarke ID, et al.: Identification of a cancer stem cell in

- human brain tumors. *Cancer Res*, 63: 5821-5818, 2003.
- 23) Hemmati HD, Nakano I, et al.: Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100: 15178-15183, 2003.
 - 24) Wang J, Sakariassen PO, et al.: CD133 negative glioma cells form tumors in nude rats and give rise to CD133 positive cells. *Int J Cancer*, 122: 761-768, 2007.
 - 25) Al-Hajj M, Wicha MS, et al.: Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100:3983-2988, 2003.
 - 26) Li C, Heidt DG, et al.: Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res*, 67: 1030-1037, 2007.
 - 27) Gao MQ, Choi YP, et al.: CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene*, 29: 2672-2680, 2010.
 - 28) Kastan MB, Schlaffer E, et al.: Direct demonstration of elevated aldehyde dehydrogenase in human hematopoietic progenitor cells. *Blood*, 75: 1947-1950, 1990.
 - 29) Ginestier C, Hur MH, et al.: ALDH1 is a Marker of Normal and Malignant Human Mammary Stem Cells and a Predictor of Poor Clinical Outcome. *Cell stem cell*, 1: 555-567, 2007.
 - 30) Bhaijee F, Pepper DJ, et al.: Cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma: a review of current knowledge and future applications. *Head Neck*, 34: 894-899, 2011.
 - 31) Huang EH, Hynes MJ, et al.: Aldehyde dehydrogenase 1 is a marker for normal and malignant human colonic stem cells (SC) and tracks SC overpopulation during colon tumorigenesis. *Cancer Res*, 69: 3382-3389, 2009. "
 - 32) Okudela K, Woo T, et al.: Expression of the potential cancer stem cell markers, CD133, CD44, ALDH1, and beta-catenin, in primary lung adenocarcinoma--their prognostic significance. *Pathology international*, 62: 792-801, 2012.
 - 33) Klonisch T, Wiechec E, et al.: Cancer stem cell markers in common cancers - therapeutic implications. *Trends Mol Med*, 10: 450-460, 2008.
 - 34) Al-Hajj M, Wicha M, et al.: Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *PNAS*, 100: 3983-3988, 2003.
 - 35) Sheridan C, Kishimoto H, et al.: CD44+/CD24- breast cancer cells exhibit enhanced invasive properties: an early step necessary for metastasis. *Breast Cancer Res*, 8: R59, 2006.
 - 36) Bonnet D, Dick JE. et al.: Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*, 3:730-737, 1997.
 - 37) Puca F, Colamaio M, et al.: HMGA1 silencing restores normal stem cell characteristics in colon cancer stem cells by increasing p53 levels. *Oncotarget*, 5: 3234-3245, 2014.
 - 38) Singh SK, Clarke ID, et al.: Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res*, 63: 5821-5828, 2003.
 - 39) Collins AT, Berry PA, et al.: Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res*, 65: 10946-10951, 2005.
 - 40) Hermann PC, Huber SL, et al.: Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell*, 1: 313-323, 2007.
 - 41) Li C, Heidt DG, et al.: Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res*, 67: 1030-1037, 2007.
 - 42) Bu Y, Cao D: The origin of cancer stem cells. *Front Biosci*, 4: 819-830, 2012.
 - 43) Thiery JP, Acloque H, et al.: Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 139: 871-890, 2009.
 - 44) Battula VL, Evans KW, et al.: Epithelial-mesenchymal transition-derived cells exhibit multilineage differentiation potential similar to mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 28: 1435-1445, 2010.
 - 45) Mani SA, Guo W, et al: The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*, 133: 704-715, 2008.
 - 46) Morel AP, Lièvre M, et al.: Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One*, 3: e2888, 2008.
 - 47) Thiery JP, Acloque H, et al.: Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 139: 871-890, 2009.
 - 48) Liu J, Brown RE: Immunohistochemical detection of epithelialmesenchymal transition associated with stemness phenotype in anaplastic thyroid carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 3: 755-762, 2010.
 - 49) Shang Y, Cai X, et al.: Roles of epithelial-mesenchymal transition in cancer drug resistance. *Curr Cancer Drug Targets*, 13: 915-929, 2013.
 - 50) Dave B, Mittal V, et al.: Epithelial-mesenchymal transition, cancer stem cells and treatment resistance. *Breast Cancer Res*, 14: 202, 2012.
 - 51) Gomez-Casal R, Epperly MW, et al.: Radioresistant human lung adenocarcinoma cells that survived multiple fractions of ionizing radiation are sensitive to HSP90 inhibition. *Oncotarget*, 6:44306-44322, 2015.
 - 52) Jie D, Zhongmin Z, et al.: Positive expression of LSD1 and negative expression of E-cadherin correlate with metastasis and poor prognosis of colon cancer. *Dig Dis Sci*, 58: 1581-1589, 2013.
 - 53) He E, Pan F, et al.: Fractionated ionizing radiation promotes epithelial-mesenchymal transition in human esophageal cancer cells through PTEN deficiency-mediated Akt activation. *PLoS One*, 10: e0126149, 2015.
 - 54) Marie-Egyptienne DT, Lohse I, et al.: Cancer stem cells, the epithelial to mesenchymal transition (EMT) and radioresistance: Potential role of hypoxia. *Cancer Lett*, 341: 63-72, 2013.
 - 55) Nagarajan D, Melo T, et al.: ERK/GSK3 β /Snail signaling mediates radiation-induced alveolar epithelial-to-mesenchymal transition. *Free Radic Biol Med*, 52: 983-992, 2012.
 - 56) Kawamoto A, Yokoe T, et al.: Radiation induces epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells. *Oncol Rep*, 27: 51-57, 2012.
 - 57) Kim E, Youn H, et al.: PAK1 tyrosine phosphorylation is required to induce epithelial-mesenchymal transition and radioresistance in lung cancer cells. *Cancer Res*, 74: 5520-5531, 2014.
 - 58) Yan S, Wang Y, et al.: Low-dose radiation-induced epithelial-mesenchymal transition through NF- κ B in cervical cancer cells. *Int J Oncol*, 42: 1801-1806, 2013.
 - 59) Lu J, Zhong Y, et al.: Radiation Enhances the Epithelial-Mesenchymal Transition of A549 Cells via miR3591-5p/USP33/PPM1A. *Cell Physiol Biochem*, 50: 721-733, 2018.
 - 60) Chang L, Graham PH, et al.: Emerging roles of radioresistance in prostate cancer metastasis and radiation therapy. *Cancer Metastasis Rev*, 33: 469-496, 2014.
 - 61) Al-Assar O, Demiciorglu F, et al.: Contextual regulation of pancreatic cancer stem cell phenotype and radioresistance by pancreatic stellate cells. *Radiother Oncol*, 111: 243-251, 2014.
 - 62) Bastos LG, de Marcondes PG, et al.: Abdelhay ES and Morgado-Díaz JA: Progeny from irradiated colorectal cancer cells acquire an EMT-like phenotype and activate Wnt/ β -catenin pathway. *J Cell Biochem*, 115: 2175-2187, 2014."
 - 63) Zhang P, Wei Y, et al.: ATM-mediated stabilization of ZEB1 promotes DNA damage response and radioresistance through CHK1. *Nat Cell Biol*, 16: 864-875, 2014.
 - 64) Kim E, Youn H, et al.: PAK1 tyrosine phosphorylation is required to induce epithelial-mesenchymal transition and radioresistance in lung cancer cells. *Cancer Res*, 74: 5520-5531, 2014.

- 65) Li G, Liu Y, et al.: Irradiation induced epithelial-mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma in vitro. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 48: 662-667, 2013.
- 66) Jiang X, Wang J, et al.: The role of CD29-ILK-Akt signaling-mediated epithelial-mesenchymal transition of liver epithelial cells and chemoresistance and radioresistance in hepatocellular carcinoma cells. *Med Oncol*, 32: 141, 2015.
- 67) Zhang X, Zheng L, et al.: Tangeretin enhances radiosensitivity and inhibits the radiation-induced epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer cells. *Oncol Rep*, 34: 302-310, 2015.
- 68) Moncharmont C, Levy A, et al.: Radiation-enhanced cell migration/invasion process: a review. *Crit Rev Oncol Hematol*, 92: 133-142, 2014.
- 69) Wild-Bode C, Weller M, et al.: Sublethal irradiation promotes migration and invasiveness of glioma cells: implications for radiotherapy of human glioblastoma. *Cancer Res*, 61: 2744-2750, 2001.
- 70) De Bacco F, Luraghi P, et al.: Induction of MET by ionizing radiation and its role in radioresistance and invasive growth of cancer. *J Natl Cancer Inst*, 103: 645-661, 2011.
- 71) Zhang X, Li X, et al.: Low doses ionizing radiation enhances the invasiveness of breast cancer cells by inducing epithelial mesenchymal transition. *Biochem Biophys Res Commun*, 412: 188-192, 2011.
- 72) Essen CF. Radiation enhancement of metastasis: a review. *Clin Exp Metastasis*, 9: 77-104, 1991.
- 73) Madani I, De Neve W, et al.: Does ionizing radiation stimulate cancer invasion and metastasis? *Bull Cancer*, 95: 292-300, 2008.
- 74) Park JK, Jang SJ, et al.: Establishment of animal model for the analysis of cancer cell metastasis during radiotherapy. *Radiat Oncol*, 7: 153, 2012.
- 75) Ryo Saga, Satoru Monzen, et al.: Anti-tumor and anti-invasion effects of a combination of 4-methylumbelliferone and ionizing radiation in human fibrosarcoma cells. *Oncology Letters*, 13: 410-416, 2017.
- 76) Ryo Saga, Kazuki Hasegawa, et al.: Regulation of radiosensitivity by 4-methylumbelliferone via the suppression of interleukin-1 in fibrosarcoma cells. *Oncology Letters*, 17: 3555-3561, 2019.
- 77) Feig DI, Reid TM, et al.: Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res*, 54(7 Suppl): 1890s-1894s, 1994.
- 78) Cheng H, Lee SH, et al.: Effects of N-acetyl-L-cysteine on adhesive strength between breast cancer cell and extracellular matrix proteins after ionizing radiation. *Life Sci*. 93:798-803, 2013.
- 79) Kambach DM, Sodi VL, et al.: ErbB2, FoxM1 and 14-3-3zeta prime breast cancer cells for invasion in response to ionizing radiation. *Oncogene*, 33: 589-98, 2014.
- 80) Pani G, Giannoni E, et al.: Redox-based escape mechanism from death: the cancer lesson. *Antioxid Redox Signal*, 11: 2791-2806, 2009.
- 81) Pani G, Galeotti T, et al.: Metastasis: cancer cell's escape from oxidative stress. *Cancer Metastasis Rev*, 29: 351-378, 2010.
- 82) Sullivan LB, Chandel NS.: Mitochondrial reactive oxygen species and cancer. *Cancer Metab*, 2: 17, 2014.
- 83) Mori K, Shibamura M, et al.: Invasive potential induced under long-term oxidative stress in mammary epithelial cells. *Cancer Res*, 64: 7464-7472, 2004.
- 84) Wang L, Huang X, et al.: Enrichment of prostate cancer stem-like cells from human prostate cancer cell lines by culture in serum-free medium and chemoradiotherapy. *Int J Biol Sci*, 9: 472-479, 2013.
- 85) Al-Assar O, Muschel RJ, et al.: Radiation response of cancer stem-like cells from established human cell lines after sorting for surface markers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 75: 1216-1225, 2009.
- 86) Lagadec C, Vlashi E, et al.: Radiation-induced reprogramming of breast cancer cells. *Stem Cells*, 30: 833-844, 2012.
- 87) Balkwill FR, Capasso M, et al.: The tumor microenvironment at a glance. *Journal of cell science*, 125(Pt 23): 5591-5596, 2012.
- 88) Gilbertson RJ, Rich JN. Making a tumour's bed: glioblastoma stem cells and the vascular niche. *Nat Rev Cancer*, 7: 733-736, 2007.
- 89) Heddleston JM, Li Z, et al.: The hypoxic microenvironment maintains glioblastoma stem cells and promotes reprogramming towards a cancer stem cell phenotype. *Cell Cycle*, 8: 3274-3284, 2009.
- 90) Murata K, Saga R, et al.: Understanding the mechanism underlying the acquisition of radioresistance in human prostate cancer cells. *Oncology Letters*, 17: 5830-5838, 2019.
- 91) Iliopoulos D, Hirsch HA, et al.: Inducible formation of breast cancer stem cells and their dynamic equilibrium with non-stem cancer cells via IL6 secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108: 1397-1402, 2011.
- 92) Wang Y, Li W, Patel SS, et al: Blocking the formation of radiation-induced breast cancer stem cells. *Oncotarget*, 5: 3743-3755, 2014.
- 93) Bigagli E, Cinci L, et al.: Transcriptomic Characterization, Chemosensitivity and Regulatory Effects of Exosomes in Spontaneous EMT/MET Transitions of Breast Cancer Cells *Cancer Genomics Proteomics*, 16: 163-173, 2019.
- 94) Liu S, Cong Y, et al. Breast Cancer Stem Cells Transition between Epithelial and Mesenchymal States Reflective of their Normal Counterparts. *Stem cell reports*, 2: 78-91, 2014.
- 95) Vlashi E, Pajonk F: Cancer Stem Cells, Cancer Cell Plasticity and Radiation Therapy *Semin Cancer Biol*, 0: 28-35, 2015.
- 96) Hosokawa Y, Saga R, et al.: Ascorbic acid does not reduce the anticancer effect of radiotherapy *Biomedical Reports*, 6: 103-107, 2017
- 97) Fujita S, Hosokawa Y, et al.: Apoptotic Induction Mechanism of X-ray Irradiation Combined with Hydrogen Peroxide Radiation Environment and Medicine, 8: 85-93, 2019.
- 98) Lee SY, Jeong EK, et al.: Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation. *Molecular Cancer*, 16: 10, 2017.

【Review】

Cancer stem cells and radiotherapy

YOICHIRO HOSOKAWA^{*1} RYO SAGA^{*1} KAZUKI HASEGAWA^{*1}
KENTARO OHUCHI^{*2} KAZUHIKO OKUMURA^{*2}

(Received October 8, 2019 ; Accepted December 23, 2019)

Abstract: Malignant tumors consist of many cell types. Cancer stem cells comprise a small population of a tumor and are not as tumorigenic as the other resident cell types. However, they have gained importance because they replenish the major cancer cells while retaining their self-renewal and differentiation potentials. Understanding cancer stem cell behavior can alleviate the challenges associated with cancer, such as tumor recurrence, metastasis, and acquired resistance to radiotherapy. Therefore, research on cancer stem cells has become widespread. In this review, we discuss the history of cancer stem cell research, origin and methods of identifying cancer stem cells, biological characteristics of cancer stem cells (such as signal transduction), effects of radiation on cancer stem cells, and future strategies that could be used in radiation therapy.

Keywords: Cancer stem cells, Radiotherapy, Redioresistance, Metastasis, Epithelial mesenchymal transition