

REVIEW ARTICLE

암줄기세포

허민희 · Gabriela Dontu¹ · Max S. Wicha¹

관동대학교 의과대학 제일병원 외과, ¹Department of Internal Medicine, Comprehensive Cancer Center, University of Michigan, MI, USA

Cancer Stem Cells

Min-Hee Hur, Gabriela Dontu¹, Max S. Wicha¹

Department of Surgery, Cheil General Hospital and Women's Healthcare Center, College of Medicine, Kwandong University, Seoul, Korea; ¹Department of Internal Medicine, Comprehensive Cancer Center, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

Recent results have supported the cancer stem cells hypothesis in which tumors originate from tissue stem cells or their early progenitors and, as a result, produce tumors that retain stem cell properties. These properties include self-renewal that drives tumorigenesis and differentiation that contributes to cellular heterogeneity. The number of these cells is very small, and is tightly controlled by the self-renewal pathway and the signals of their environment (niche). Evidence for the existence of cancer stem cells has been

reported for a number of human cancers including leukemia, cancers of the breast, brain, and colon. Although our understanding of the biology of these cancer stem cells remains rudimentary, the existence of these cells has implications for current conceptualization of malignant transformation and targeted therapy for the treatment of cancer.

Key Words : Cancer stem cells, Self renewal, Targeted therapy

중심단어 : 암줄기세포, 자가재생, 표적 치료

서 론

"The simplest view appears to me undoubtedly to be that in an early stage of embryonic development more cells are produced than are required for building up the part concerned, so that there remains unappropriated a quantity of cells—it may be very few in number—which, owing to their embryonic character, are endowed with a marked capacity for proliferation... The only point on which I lay stress is that the real cause of the subsequent tumour is to be sought in a fault or irregularity of the embryonic rudiment." Julius Cohnheim, 1889.

책임저자 : 허민희

100-380 서울시 중구 목정동 1-19, 관동대학교 의과대학 제일병원 외과
Tel: 02-2000-7344, Fax: 02-2000-7791
E-mail : hmh1916@gmail.com

암줄기세포(cancer stem cell)는 무제한 재생능력을 가진 암 세포로서 면역억제 위에 주입하였을 때 고효율적으로 종양을 생성할 수 있으며, 그 형성된 종양에서는 원발 종양이 가지고 있던 고유의 이질성(heterogeneity)이 잘 표현되었을 때 비로소 암줄기세포로 정의될 수 있다. (1) 줄기세포에서 종양이 기원할 것이라는 가설은 이미 1875년 Cohnheim의해 제안되었으나, (2) 암줄기세포 가설은 줄기세포 생물학이 발달하게 된 최근에 이르러서야 구체화되기 시작하였다. 1997년 Bonnet과 Dick(3)에 의해 급성 골수성 백혈병에서 암줄기세포가 될 수 있는 일단의 세포를 면역억제 위에 이식하여 사람의 백혈병이 쥐에서 재현됨이 발표되면서 암줄기세포 가설은 진일보하게 되었고, Al-Hajj 등(4)이 유방암에서 암줄기세포를 증명하면서 고형 암종에서도 줄기세포의 존재를 확신하게 되었다.

악성 종양이 보이는 다양한 이질성이 줄기세포의 다양한 분화성과 일치하며, 많은 표적치료에도 불구하고 끊임없이 발현되는 암세포의 약물 저항성은 줄기세포의 기본 특성과 일치하는데 이

로써 종양의 발생과 줄기세포를 연관지어 생각할 수 있으며, 암 줄기세포는 새로운 표적치료 분야가 될 수 있음을 추측할 수 있다. 저자는 본문을 통하여 암줄기세포 가설을 개괄하고, 암 줄기세포의 존재를 뒷받침하는 증거와 변이가 축적되는 방식, 암 줄기세포 치료의 의미를 알아보고자 한다.

암줄기세포 가설(Cancer Stem Cell Hypothesis)

인체의 모든 조직은 기관 특유 줄기세포(organ-specific stem cells)에서 기원한다. 기관 특유 줄기세포는 자가재생(self renewal)을 할 수 있고, 각 기관을 구성하는 모든 세포로 분화(differentiation)하는 능력을 가지고 있다. 이런 기관 특유 줄기세포는 분화의 형태가 주로 정해진 기관 내의 세포형태로만 분화될 수 있다는 점에서 배아 줄기세포와 구별된다. 암줄기세포 가설은 크게 두 개의 구성요소로 이루어져 있다.(4) 첫째, 종양은 조직의 줄기세포에서 발생한다는 것. 둘째, 그 세포로부터 발생하여 구성된 종양은 줄기세포의 기본 특성을 가지고 있어야 한다는 것이다.

암줄기세포의 존재를 뒷받침하는 증거

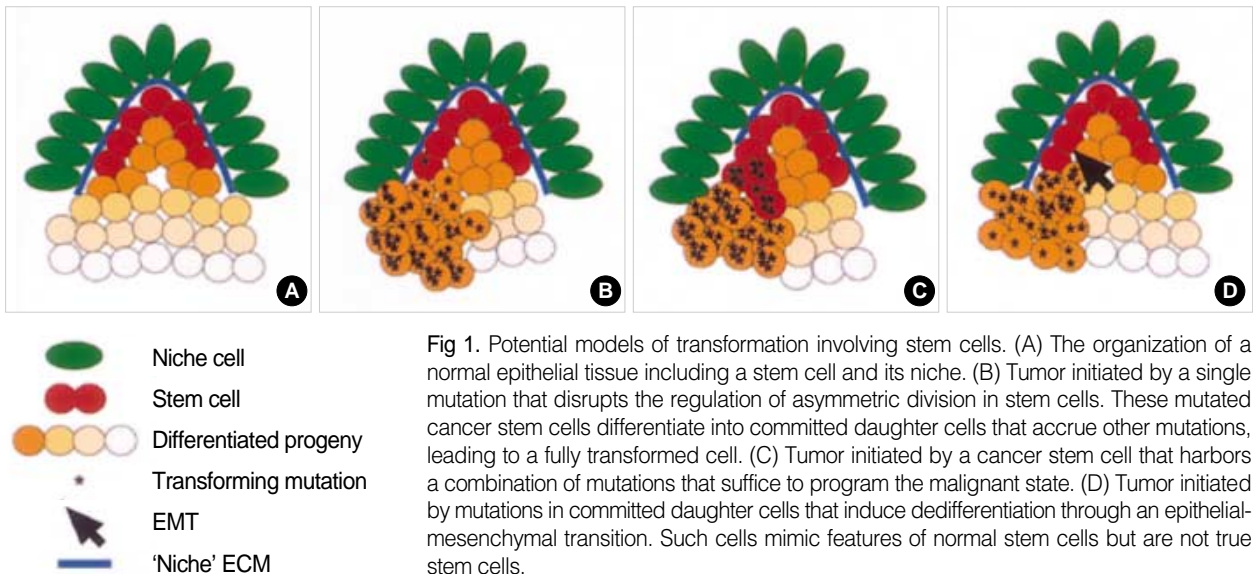
암줄기세포가 존재한다는 것은 기형암(teratocarcinoma)이나 백혈병을 앓고 있는 쥐를 이용한 실험을 통해 증명된 바 있다. 기형암 또는 백혈병을 앓고 있는 실험쥐의 복수에서 얻은 종양세포를 다른 실험쥐에 주입하였을 때 새로운 종양이 발생하였으며, 이때 형성된 종양에서는 원발 종양 고유의 이질성이 나타난 자세포(progeny)가 포함되어 있음이 보고되었는데, 이 결과를 통해 종양에는 세포군집을 형성할 수 있는 암줄기세포가 있음을 추정

할 수 있다.(5-9)

한편 악성 종양은 다양한 악성 변이가 일어난 세포들의 독특한 조합으로 이루어진다.(10) 종양의 특성에 따라 독특한 형태의 종양유전자나 종양억제유전자 변이가 발생되었음이 반복적으로 발견되는 것으로 보아 종양과 관련된 변이는 종양 특유의 아형을 만드는 것에 일조하는 것으로 생각된다.(11) 그리고 종양은 주변의 정상적으로 분화된 상피세포와 유사한 형질을 나타내는데 이는 분화세포에 유전자 변이가 축적된다는 사실을 시사하는 것이다.

그러나, 유전자 변이는 종양을 발생시키고, 종양은 대부분 분화된 세포로 구성되지만 분화된 세포에서만 유전자 변이가 일어난다고 보기는 어렵다. 그 이유는 첫째, 대부분의 상피조직을 구성하는 분화세포는 증식이 잘되지 않고, 상피층은 끊임없이 대체되고 있기 때문이다. 이것은 종양을 만들 만큼 변이가 축적될 수 있는 세포가 많지 않다는 걸 의미한다. 둘째, 대부분의 종양들은 세포의 분화도나 변이 정도가 다른 여러 종류의 세포들로 구성되어 있는데, 만일 잘 분화된 세포들에서만 변이가 일어난다면 어떻게 분화된 세포에서 미분화된 세포를 만들어내게 되는지 설명할 수 없다. 물론 세포에서 어느 정도 세포의 탈분화(dedifferentiation)가 일어난다고 가정해도 이를 설명하기에는 미흡하다. 셋째, 수많은 암세포주(cancer cell lines)들이 존재하지만 종양을 만들려면 무척 많은 수의 세포가 요구된다. 만일 각각의 암세포에 충분한 변이가 축적이 된다면 소량의 세포만으로도 종양을 형성할 수가 있을 것이다. 실제 암세포주들이나 환자로부터 직접 얻은 종양모델에서 얻은 세포들은 종양을 형성하는 능력이 떨어지고,(1) 이는 실제 종양을 형성할 수 있는 세포는 극히 소수라는 것을 의미한다.

정상 조직의 재생은 조직 줄기세포에 의해 수행되고, 줄기세포



는 분열하여 하나의 딸세포로 줄기세포를, 다른 하나의 딸세포로 분화세포를 만들게 된다. 이런 방식의 세포분열을 비대칭 분열 (asymmetric division)이라 한다.(2) 이 과정에 관여하는 세포에는 천천히 증식하는 줄기세포, 빠르게 증식하는 이행증폭세포 (transit-amplifying cell), 최종 분화세포(terminally differentiated cell) 등이 있다(Fig 1A). 세포의 자가재생과 분화는 줄기세포 주변의 특정한 미세환경(stem cell niche)에서 보내는 신호에 의해 철저히 조절되고 있다. 보통 조직 특유 줄기세포(tissue specific stem cell)는 직접적으로 유전자 변이가 일어날 수 있는 특성을 가지고 있다. 이러한 특성 중 무제한적인 자가재생은 줄기세포의 가장 대표적인 특징이며, 악성종양은 자가재생이 조절되지 않을 때 발생한다고 여겨진다.(12) 최근 연구에 의하면 정상 줄기세포를 유지하는데 필요한 자가재생 신호체계들이 악성종양에서 변형되어 있음이 보고되고 있다. 단적인 예로 Notch, (13-16) Sonic Hedgehog (Shh), (17-21) Wnt (Fig 2), (22-25) β -catenin, PTEN, TGF- β , Bmi-1 등의 변형을 들 수 있다. (26-32)

백혈병, 유방암, 뇌종양과 여러 암세포주에서 정상 줄기세포와

동일한 세포표면 표지자(cell surface marker)를 가지고 있는 세포군이 추출되었는데, 이 세포군들이 암줄기세포로 추정되고 있다. 예를들면 NOD/SCID 쥐(nonobese diabetic/severe combined immune deficiency mice)에서 급성 골수구성 백혈병을 발생시킬 수 있는 세포군이 발견되었는데, 이 세포들은 $CD34^+CD38^-$ 표현형을 보이고 있었고, (3) 이 표현형은 정상 조혈줄기세포에서도 발현되고 있었다. 이는 수임 모세포(committed progenitor)가 아닌 조혈 줄기세포가 백혈병의 원인이 되는 변이가 일어나는 세포라는 걸 의미하는 소견으로 생각된다. 또 다른 연구에서는 정상 조혈 줄기세포는 $CD34^+CD38^-Thy-1^+$ 표현형을 보였으나, 백혈구 아세포는 $CD34^+CD38^-Thy-1^-$ 표현형을 보였다. Thy-1이 표현되지 않았다는 것은 줄기세포에서 부가적인 변이가 일어나서, 급성 골수성 백혈병이 발현되는 것으로 추정된다. (33) 유방암 환자의 악성 흉수에서 추출한 200개의 $CD44^+CD24^{low}$ 세포를 NOD/SCID 쥐에 주입하였더니 종양이 형성되었고, 이 종양은 원발 종양의 이질성을 잘 반영하고 있었던 반면, $CD44^+CD24^+$ 세포 50,000개를 동일한 쥐에 주입했을 때는 종양이 형성되지 않았다. (1) 한편, 정상 신경줄기세포와

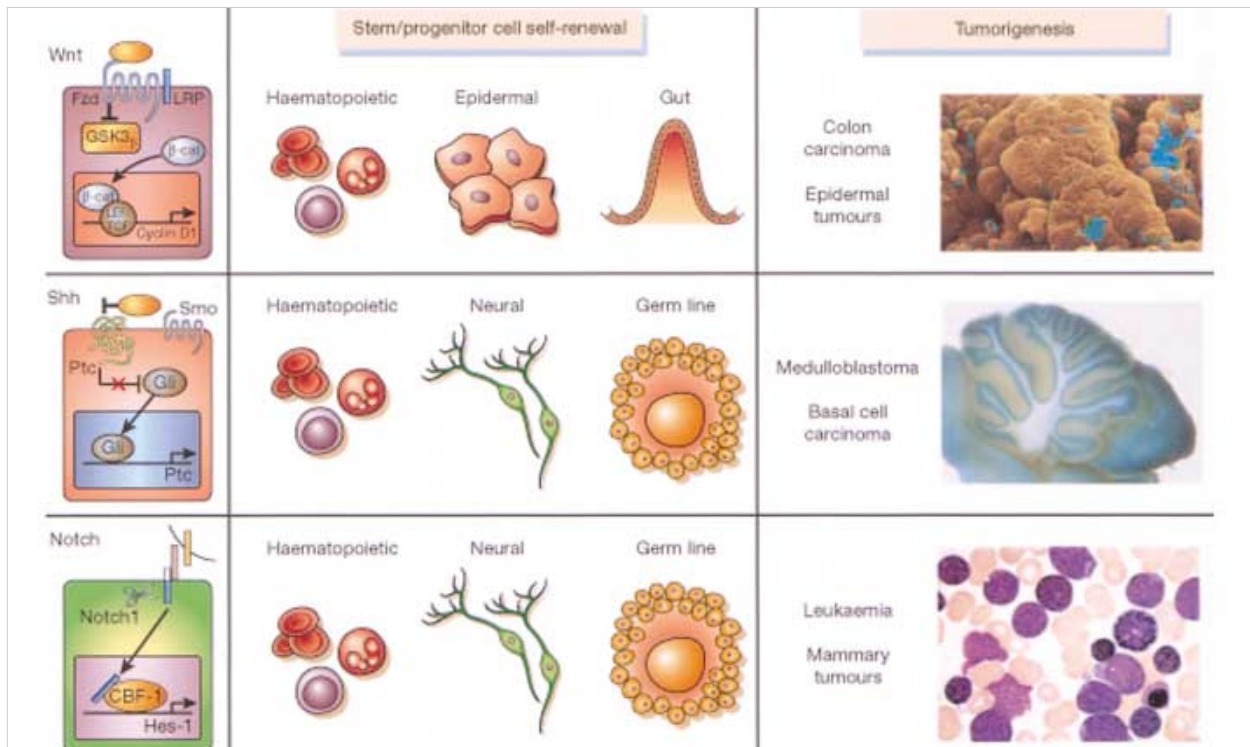


Fig 2. Signaling pathways that regulate self-renewal mechanisms during normal stem cell development and during transformation. Wnt, Shh and Notch pathways have been shown to contribute to the self-renewal of stem cells and/or progenitors in a variety of organs, including the hematopoietic and nervous systems. When dysregulated, these pathways can contribute to oncogenesis. Mutations of these pathways have been associated with a number of human tumors, including colon carcinoma and epidermal tumors (Wnt), medulloblastoma and basal cell carcinoma (Shh), and T-cell leukemias (Notch). (Images courtesy of Eye of Science/SPL and R. Wechsler-Reya/M. Scott/Annual reviews.)

뇌종양 줄기세포는 CD133을 공통적으로 표현하는데, (34, 35) CD133이 표현된 신경세포 100개 이하를 NOD/SCID 쥐의 두개강 내에 주입했을 때 종양이 형성되는 것이 관찰되었다. Hoechst 33342 dye를 세포 밖으로 배출해내는 것은 정상 줄기세포가 가지는 특징이며 이 줄기세포군을 'side population'이라 하는데, 'side population' 세포들은 암세포주들에서도 추출되어졌다. (36-39)

이런 연구들을 통해 암줄기세포는 조혈세포계에만 존재하는 게 아니라 상피종에도 존재함을 알 수 있다. 그러나 현재까지는 암 줄기세포는 특유의 분자생물학적 특성(molecular profile)이 증명된 것이 아니라 기능적인 의미로만 정의되고 있고, 일단 인정되는 것은 암 줄기세포는 정상 줄기세포와 세포표면 표지자 표현형이 유사하며 변형된 이행중폭 세포의 특성을 반영할 수 있다는 것이다.

암줄기세포의 기원

종양에서 줄기세포와 비슷한 특성을 가진 세포들이 확인되면서 이러한 세포들에서 종양이 기원하는 것이 아닌가 하는 의문이 제기되어 왔다. 그러나 암줄기세포가 종양 발생에 관여한다는 증거가 많이 보고되고 있고, 줄기 세포가 오랜 기간 생존하는 세포라 할지라도 조직 내에서 줄기세포가 차지하는 부분은 극히 일부에 불과하기 때문에 종양 발생의 기원을 줄기세포만으로 설명할 수는 없다. Polyak 등(40)에 의해 제시된 암줄기세포 변형의 형태는 크게 세가지로 나뉘어진다(Fig 1). 우선 상피암이 다양한 분화 정도를 보이는 세포들로 구성되어 있다는 점으로 볼 때 암줄기세포 자체로 구성되어 있는 것이 아니라 종양 대부분은 암줄기세포에서 생산된 다소 다능성이 떨어지는 딸세포(less multipotent daughter cell)들로 구성된다는 모델이다(Fig 1B). 이 모델에서는 변이가 줄기세포의 비대칭 세포분열 단계에서 일어나면서 유전체의 안정을 손상시키는 변이가 수임 모세포에서 주로 발생하고 완전히 변형된 상태에 이르게 된다.(41) 이 모델에서 변형된 암세포는 전체 종양을 채우는 과정에서 훨씬 더 많은 변이들을 거치게 되고, 재발했을 때는 그 재발된 종양은 원발 종양과 다른 형태의 변이를 갖게 되며, 초기 단계에서 이행중폭세포를 공격하는 치료를 시행하면 오랜 기간 동안 임상적 관해에 이를 수 있을 것으로 기대된다.

두 번째 모델은 줄기세포 자체가 악성종양의 잠재력을 가질 만큼 충분한 유전자의 변이가 축적되어 종양을 일으킨다는 이론이다(Fig 1C). 이 모델에서는 암 줄기세포가 분화능력을 가진 것으로 가정하고 있어 보통 악성종양에서 보이는 다양한 분화를 이론적으로 설명할 수 있다. 게다가 만일 재발하게 된다면 재발된 종

양은 원발 종양과 동일한 유전자 변이를 보이게 될 것이다. 치료된 환자들에게서 재발된 유방 관상피내암의 경우가 이러한 이론은 뒷받침한다.(42)

세 번째 모델은 이행중폭세포 또는 분화 상피세포가 분화과정에 장애를 일으킬 수 있는 유전자 변이를 가지고 있어 이로 인해 발생한 탈분화세포(dedifferentiated cell)들이 줄기세포와 유사한 형질을 나타낸다는 것이다(Fig 1D). (43, 44) 이 모델은 상피-중간엽 이행(epithelial-mesenchymal transition, EMT)이 종양발생의 핵심적인 과정이라는 것을 보여주는 연구에서 나온 것으로 이는 탈분화할 수 있는 능력이 형질전환(transformation)의 핵심적인 과정이라는 것을 시사하고 있다. (45) 이 모델을 지지하는 증거는 초파리 난소세포에서 찾아볼 수 있는데, (46) 초파리의 난소에서는 소수의 정상 이행중폭세포들이 줄기세포로 다시 돌아가는 능력을 보인다. Mixed lineage leukemia (MLL) fusion gene을 정제된 조혈줄기세포나 골수 모세포(myeloid progenitor)에 도입하면 자발적으로 발생한 종양과 유사한 백혈병이 유발되는데, (47) 이 경우 형질전환을 일으킨 주요한 세포군이 이행중폭세포일 것으로 추측된다. 현재 이상 열거한 모델들을 뒷받침해 주는 정황적인 증거들이 있기는 하지만 각각의 모델들을 뒷받침하는 명백한 증거를 찾기 위해서는 원발 또는 재발 종양에서 암줄기세포를 분리해 내고 이들의 특성을 분석해 내는 일이 필요하다.

치료적인 측면

암줄기세포에 대한 관심은 항암치료가 종양내의 이러한 세포군을 효과적으로 표적화하여 치료하지 못한 데서 항암치료가 실패하고 종양의 재발로 연결된 것은 아닌가 하는데 있다. (48) 많은 세포독성 항암제는 대개 빠르게 증식하는 세포를 표적으로 하고 있어서 아마도 약물에 대한 반응은 실제로 이행중폭세포에 대한 반응이었을 것이고 천천히 증식하는 특징을 가진 암줄기세포는 세포독성 항암요법에서 살아남을 수 있었을 것이다. 기저세포형(basal cell phenotype) 유방암은 분화과정의 초기 단계의 유선 모세포(earliest mammary progenitor cell)에서 기원한 것으로 여겨지며, 예후가 불량하고 기존의 항암요법에 내성을 나타낸다고 알려져 있는데, 항암치료의 실패원인이 암줄기세포에 대한 표적치료가 안되었기 때문이란 것을 지지하는 좋은 예라 할 수 있다. (49) 정상 줄기세포와 암줄기세포의 공통된 특징 중의 하나는 세포에서 약물을 밖으로 배출시킬 수 있는 능력인데, 이로 인해 암줄기세포는 쉽게 항암요법에 대한 내성을 나타내는 것으로 보인다. (50)

암줄기세포의 다약제 내성에도 불구하고 암줄기세포 가설에

근거하여 여러 치료방법들이 고안되었는데, 그 중 많이 알려진 방법은 암줄기세포의 자가재생 경로를 이용하는 방법이다. 이러한 치료에서 중요한 점은 정상 줄기세포의 자가재생은 유지하면서 암줄기세포의 자가재생만을 표적으로 해야 하는 것이다. 예로서 Notch 신호는 γ -secretase라는 효소에 의해 진행되는데, 이에 대한 억제제(γ -secretase inhibitor)를 Notch1이 과발현된 유방암에 사용하면 종양 억제 효과를 볼 수 있다. (51, 52) Hedgehog 신호체계를 표적으로 할 경우에도 항암효과를 보인다는 최근 보고가 있는데, Hedgehog 억제제인 cyclopamine을 종양을 이종이식(tumor xenograft)한 동물에 투여했을 때 극적으로 종양이 위축되었다는 것이다. (53)

한편, 다약제 항암요법(multidrug chemotherapeutic regimen)은 어떤 종양에서건 어느 정도의 치료 성공률을 보이므로 암줄기세포가 현행되고 있는 항암요법에 대해 특별히 내성이 있다고 하기에는 무리가 있다. 특히 배아세포 종양(germ cell tumor)의 경우 정상 배아 세포와 명백하게 연관되어 있음에도 플래티넘이 포함된 항암요법에 상당한 반응을 보인다. (54) 만성 골수구성 백혈병은 암줄기세포로부터 발생되어졌다고 알려진 질환임에도 imatinib을 사용하였을 때 실제적인 생존율의 증가를 보여주고 있다. (55) 사실 imatinib은 종양의 분화된 세포나 모세포(progenitor)에 작용하고 암줄기세포군은 제거할 수 없는 것으로 알려져 있는 약제이다. 이와 유사하게 에스트로겐 양성 유방암은 항에스트로겐 치료에, HER2 양성 유방암은 trastuzumab에 잘 반응하는데 이들 세포들은 암줄기세포는 아닌 것으로 보인다. (56) 비록 이런 약제들이 질환을 완치시킬 수 있는 약제는 아니나 종양의 아형에 따라 사용함으로써 성공을 거둔다는 것은 암줄기세포를 치료의 표적으로 삼는다는 것이 어떤 상황에서는 필요치 않을 수도 있다는 것을 시사한다. 또한 암줄기세포가 나타내는 형질이 TGF- β 와 같은 특정한 신호에 대하여 종양세포에 의해 만들어진 일시적인 것이라면 암줄기세포를 표적으로 하는 치료가 기존의 치료방법에 비해 실제로 더 큰 장점을 가진다고 할 수는 없을 것이다.

암줄기세포를 표적으로 하는 치료를 시행할 때 생길 수 있는 문제점에 대해 생각해 보면 암 줄기세포가 항암요법에 내성이 있거나 종양 내에서 극소수로만 존재한다면 항암요법을 시행했을 때 종양의 크기가 줄어드는 것은 일시적으로 빨리 자라는 세포에 대한 약물의 반응을 반영하는 것이지 암줄기세포에 대한 표적치료에 대한 효과를 반영하는 것은 아닐 것이다. (4) 실제 암줄기세포에 대한 치료를 시작할 때는 약물의 반응을 가늠할 수 있는 지금까지의 약물반응 척도와는 다른 새로운 방법이 고안되어야 할 것이다.

지금까지 암줄기세포에 대한 연구에는 제한성도 많고, 종양의 형성이나 유지에서의 역할에 대해서는 아직까지 확실하게 밝혀진

것은 없다. 그러나 정상 줄기세포에는 손상을 주지 않으면서 암줄기세포만을 표적으로 하는 치료를 효율적으로 수행하기 위해서는 암줄기세포의 유지와 조절에 중요한 분자생물학적인 특성이나 그 조절 경로에 대한 지식과 이해가 필요하다.

결론

암줄기세포 가설은 종양의 조직의 줄기세포로부터 발생하고 그 종양은 줄기세포 특유의 능력인 자가재생이나 분화능력을 갖고 있다는 것을 중심으로 한다. 지금까지 암줄기세포의 생물학적 특징에 대한 연구결과에 제한성은 있으나, 암줄기세포의 자가재생과 분화능력을 통해 종양의 이질성을 설명할 수 있으며 자가재생 경로에 대한 연구나 암줄기세포가 가지는 분자생물학적인 특징을 통해 기존의 종양의 표적치료에 효율성을 더할 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Al-Hajj M, Clarke MF. Self-renewal and solid tumor stem cells. *Oncogene* 2004;23:7274-82.
2. Cohnheim J. Congenitales, quergestreigtes muskelsarkom der nieren. *Virchows Arch* 1875;65:64. Cited from Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004;51:1-28.
3. 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.
4. Wicha MS, Liu S, Dontu G. Cancer stem cells: an old idea--a paradigm shift. *Cancer Res* 2006;66:1883-90.
5. Burce WR, Van Der Gaag H. Quantitative assay for the number of murine lymphoma cells capable of proliferation in vivo. *Nature* 1963;199:79-80.
6. Kleinsmith LJ, Pierce GB. Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells. *Cancer Res* 1964;24:1544-51.
7. Makino S. Further evidence favoring the concept of the stem cell in ascites tumors of rats. *Ann NY Acad Sci* 1956;63:818-30.
8. Park CH, Bergsagel DE, McCulloch EA. Mouse myeloma tumor stem cells: a primary cell culture assay. *J Natl Cancer Inst* 1971;46:411-22.
9. Bruce WR, Van Der Gaag H. Quantitative assay for the number of murine lymphoma cells capable of proliferation in vivo. *Nature* 1963;199:79-80.
10. Weinberg RA. The molecular basis of oncogenes and tumor supp-

- ressor genes. *Ann N Y Acad Sci* 1995;758:331-8.
11. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004;10:789-99.
 12. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001;414:105-11.
 13. Varnum-Finney B, Xu L, Brashem-Stein C, Nourigat C, Flowers D, Bakkour S, et al. Pluripotent, cytokine-dependent, hematopoietic stem cells are immortalized by constitutive Notch1 signaling. *Nat Med* 2000;6:1278-81.
 14. Henrique D, Hirsinger E, Adam J, Le Roux I, Pourquie O, Ish-Horowicz D, et al. Maintenance of neuroepithelial progenitor cells by Delta-Notch signalling in the embryonic chick retina. *Curr Biol* 1997;7:661-70.
 15. Austin J, Kimble J. *glp-1* is required in the germ line for regulation of the decision between mitosis and meiosis in *C. elegans*. *Cell* 1987;51:589-99.
 16. Ellisen LW, Bird J, West DC, Soreng AL, Reynolds TC, Smith SD, et al. TAN-1, the human homolog of the *Drosophila* notch gene, is broken by chromosomal translocations in T lymphoblastic neoplasms. *Cell* 1991;66:649-61.
 17. Bhardwaj G, Murdoch B, Wu D, Baker DP, Williams KP, Chadwick K, et al. Sonic hedgehog induces the proliferation of primitive human hematopoietic cells via BMP regulation. *Nat Immunol* 2001;2:172-80.
 18. Wechsler-Reya RJ, Scott MP. Control of neuronal precursor proliferation in the cerebellum by Sonic Hedgehog. *Neuron* 1999;22:103-14.
 19. Zhang Y, Kalderon D. Hedgehog acts as a somatic stem cell factor in the *Drosophila* ovary. *Nature* 2001;410:599-604.
 20. Wechsler-Reya R, Scott MP. The developmental biology of brain tumors. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:385-428.
 21. Gailani MR, Bale AE. Acquired and inherited basal cell carcinomas and the patched gene. *Adv Dermatol* 1999;14:261-83.
 22. Zhu AJ, Watt FM. beta-catenin signalling modulates proliferative potential of human epidermal keratinocytes independently of intercellular adhesion. *Development* 1999;126:2285-98.
 23. Korinek V, Barker N, Moerer P, van Donselaar E, Huls G, Peters PJ, et al. Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. *Nat Genet* 1998;19:379-83.
 24. Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000;14:1837-51.
 25. Chan EF, Gat U, McNiff JM, Fuchs E. A common human skin tumour is caused by activating mutations in beta-catenin. *Nat Genet* 1999;21:410-3.
 26. Woodward WA, Chen MS, Behbod F, Rosen JM. On mammary stem cells. *J Cell Sci* 2005;118:3585-94.
 27. Miller SJ, Lavker RM, Sun TT. Interpreting epithelial cancer biology in the context of stem cells: tumor properties and therapeutic implications. *Biochim Biophys Acta* 2005;1756:25-52.
 28. Crowe DL, Parsa B, Sinha UK. Relationships between stem cells and cancer stem cells. *Histol Histopathol* 2004;19:505-9.
 29. Young HE, Duplaa C, Romero-Ramos M, Chesselet MF, Vourc'h P, Yost MJ, et al. Adult reserve stem cells and their potential for tissue engineering. *Cell Biochem Biophys* 2004;40:1-80.
 30. Beachy PA, Karhadkar SS, Berman DM. Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. *Nature* 2004;432:324-31.
 31. Valk-Lingbeek ME, Bruggeman SW, van Lohuizen M. Stem cells and cancer; the polycomb connection. *Cell* 2004;118:409-18.
 32. Tsai RY. A molecular view of stem cell and cancer cell self-renewal. *Int J Biochem Cell Biol* 2004 36:684-94.
 33. Blair A, Hogge DE, Ailles LE, Lansdorp PM, Sutherland HJ. Lack of expression of Thy-1 (CD90) on acute myeloid leukemia cells with long-term proliferative ability in vitro and in vivo. *Blood* 1997;89:3104-12.
 34. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004;432:396-401.
 35. Singh SK, Clarke ID, Hide T, Dirks PB. Cancer stem cells in nervous system tumors. *Oncogene* 2004;23:7267-73.
 36. Kondo T, Setoguchi T, Taga T. Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:781-6.
 37. Hirschmann-Jax C, Foster AE, Wulf GG, Nuchtern JG, Jax TW, Gobel U, et al. A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:14228-33.
 38. Locke M, Heywood M, Fawell S, Mackenzie IC. Retention of intrinsic stem cell hierarchies in carcinoma-derived cell lines. *Cancer Res* 2005;65:8944-50.
 39. Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, Zhou J, Claypool K, Tang DG. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas ABCG2+ and ABCG2- cancer cells are similarly tumorigenic. *Cancer Res* 2005;65:6207-19.
 40. Polyak K, Hahn WC. Roots and stems: stem cells in cancer. *Nat Med* 2006;12:296-300.
 41. Caussinus E, Gonzalez C. Induction of tumor growth by altered stem-

- cell asymmetric division in *Drosophila melanogaster*. *Nat Genet* 2005;37:1125-9.
42. Lininger RA, Fujii H, Man YG, Gabrielson E, Tavassoli FA. Comparison of loss heterozygosity in primary and recurrent ductal carcinoma in situ of the breast. *Mod Pathol* 1998;11:1151-9.
43. Passegue E, Jamieson CH, Ailles LE, Weissman IL. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(Suppl 1):11842-9.
44. Prindull G. Hypothesis: cell plasticity, linking embryonal stem cells to adult stem cell reservoirs and metastatic cancer cells? *Exp Hematol* 2005;33:738-46.
45. Bates RC, Mercurio AM. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) and colorectal cancer progression. *Cancer Biol Ther* 2005;4:365-70.
46. Kai T, Spradling A. Differentiating germ cells can revert into functional stem cells in *Drosophila melanogaster* ovaries. *Nature* 2004;428:564-9.
47. Cozzio A, Passegue E, Ayton PM, Karsunky H, Cleary ML, Weissman IL. Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors. *Genes Dev* 2003;17:3029-35.
48. Al-Hajj M, Becker MW, Wicha M, Weissman I, Clarke MF. Therapeutic implications of cancer stem cells. *Curr Opin Genet Dev* 2004;14:43-7.
49. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005;23:7350-60.
50. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer* 2005;5:275-84.
51. Pece S, Serresi M, Santolini E, Capra M, Hulleman E, Galimberti V, et al. Loss of negative regulation by Numb over Notch is relevant to human breast carcinogenesis. *J Cell Biol* 2004;167:215-21.
52. Weijzen S, Rizzo P, Braid M, Vaishnav R, Jonkheer SM, Zlobin A, et al. Activation of Notch-1 signaling maintains the neoplastic phenotype in human Ras-transformed cells. *Nat Med* 2002;8:979-86.
53. Karhadkar SS, Bova GS, Abdallah N, Dhara S, Gardner D, Maitra A, et al. Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. *Nature* 2004;431:707-12.
54. Bosl GJ, Motzer RJ. Testicular germ-cell cancer. *N Engl J Med* 1997;337:242-53.
55. Bhatia R, Holtz M, Niu N, Gray R, Snyder DS, Sawyers CL, et al. Persistence of malignant hematopoietic progenitors in chronic myelogenous leukemia patients in complete cytogenetic remission following imatinib mesylate treatment. *Blood* 2003;101:4701-7.
56. Smalley M, Ashworth A. Stem cells and breast cancer: a field in transit. *Nat Rev Cancer* 2003;3:832-44.