

# Expression of TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 and Their Clinical Significance in Patients with Intrahepatic Cholangiocarcinoma

Zeyu Shuang, Shengping Li

State Key Laboratory of Oncology in Southern China, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou Guangdong  
Email: shuangzy@sysucc.org.cn

Received: Aug. 25<sup>th</sup>, 2017; accepted: Sep. 11<sup>th</sup>, 2017; published: Sep. 14<sup>th</sup>, 2017

## Abstract

**Background:** Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) has been proved to be the marker of cancer stem cells (CSCs) in different types of tumors. However, the research of its source is rare. Recent studies showed that transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) could induce the generation of CSCs. However, the correlation of TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 expression in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) is unclear. **Method:** Expression of TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 were detected in seven normal bile duct and eighteen cholangiocarcinoma tissues by quantitative PCR. Expression of TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 were detected in fifty eight ICC tissues by using immunohistochemistry (IHC) technique. **Results:** Quantitative PCR showed that the expression of TGF- $\beta$ 1 in cholangiocarcinoma patients was higher than normal bile duct ( $P = 0.046$ ). Immunohistochemical staining showed that the expression of TGF- $\beta$ 1 was correlated with the expression of ALDH1 in ICC patients ( $P < 0.001$ ). Both of TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 expression were correlated with tumor differentiation ( $P = 0.003$  or  $P = 0.011$ ) and ALDH1 expression was correlated with the level of CA199 ( $P = 0.041$ ). Both of TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 expression were prognostic factors in ICC patients ( $P = 0.012$  or  $P = 0.033$ ). Cox multivariate model showed that TGF- $\beta$ 1 expression was independent prognostic factors in ICC patients ( $P = 0.014$ ). **Conclusion:** The expression of TGF- $\beta$ 1 is related to the expression of ALDH1 in ICC patients. And the expression of TGF- $\beta$ 1 can be used as the independent predictor for the prognosis of patients with ICC.

## Keywords

Intrahepatic Cholangiocarcinoma, TGF- $\beta$ 1, ALDH1, Prognosis

## 转化生长因子 $\beta$ 1与乙醛脱氢酶1在肝内胆管细胞癌的表达及其临床意义

双泽宇, 李升平

华南肿瘤学国家重点实验室, 中山大学肿瘤防治中心, 广东 广州  
Email: shuangzy@sysucc.org.cn

收稿日期: 2017年8月25日; 录用日期: 2017年9月11日; 发布日期: 2017年9月14日

## 摘要

**背景:** 乙醛脱氢酶1 (ALDH1)可作为多种肿瘤干细胞的标志, 而对其来源报道较少。体外研究表明转化生长因子 $\beta 1$  (transforming growth factor $\beta 1$ , TGF- $\beta 1$ )能诱导肿瘤干细胞的产生, 而胆管细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 表达与ALDH1的关系尚未阐明。**方法:** 采用定量PCR检测7例正常胆管、18例胆管细胞癌新鲜组织中TGF- $\beta 1$ 和ALDH1 mRNA的表达, 免疫组织化学染色的方法检测58例肝内胆管细胞癌石蜡组织中TGF- $\beta 1$ 和ALDH1蛋白的表达。**结果:** 胆管细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 的mRNA水平明显高于正常胆管( $P = 0.046$ ), ALDH1的mRNA水平无统计学差异。肝内胆管细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 低表达组28例, 高表达组30例, 高表达阳性率为51.72%, ALDH1低表达组23例, 高表达组35例, 高表达阳性率为60.34%, TGF- $\beta 1$ 与ALDH1的表达呈正相关( $r = 0.583, P < 0.001$ )。肝内胆管癌组织中TGF- $\beta 1$ 及ALDH1表达在肿瘤低分化组高于高分化组( $P$ 值分别为0.003、0.011), ALDH1表达在术前血浆CA199浓度高水平组高于低水平组( $P = 0.041$ )。肝内胆管细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 及ALDH1高水平组患者的总生存率低于低水平组( $P$ 值分别为0.012、0.033)。多因素Cox回归模型分析显示TGF- $\beta 1$ 表达量是影响肝内胆管细胞癌患者预后的独立危险因素( $P = 0.014$ )。**结论:** 肝内胆管细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 表达与ALDH1表达有关; 肝内胆管细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 表达量可作为预测患者术后预后的指标。

## 关键词

肝内胆管细胞癌, 转化生长因子 $\beta 1$ , 乙醛脱氢酶1, 预后

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

肝内胆管细胞癌在肝胆恶性肿瘤中发病率仅次于肝细胞癌, 近年来发病率逐渐升高[1]。目前治疗肝内胆管细胞癌最有效的方法是手术切除, 但多数患者并不具备手术的指征和条件。然而即使手术, 术后的复发转移率也极高, 导致肝内胆管细胞癌患者的总体5年生存率处于较低水平[2]。因此, 阐明复发和转移的机制对于肝内胆管细胞癌的诊治具有重要的意义。

肿瘤的复发和转移是约90%的肿瘤患者治疗无效及死亡的主要原因, 肿瘤干细胞(Cancer stem cells, CSCs)可能是其中的“源头”细胞。乙醛脱氢酶1 (Aldehyde dehydrogenase, ALDH1)是一种组织的代谢功能分子, 能催化细胞内的乙醛氧化成乙酸, 参与组织的分化与多种基因表达。近年来研究表明, ALDH1是组织中CSCs生长、分化的必需物质。ALDH1被鉴定为乳腺癌、头颈癌、肺癌、前列腺癌、胰腺癌、结直肠癌及卵巢癌干细胞的标记物[3], 是目前最具应用前景的干细胞通用标记物之一。转化生长因子(transforming growth factor  $\beta 1$ , TGF- $\beta 1$ )是诱导细胞发生上皮间质转化(EMT)的关键分子。近年来研究也表明TGF- $\beta 1$ 诱导EMT的过程中能使肿瘤获得干细胞的特性[4]。肝内胆管细胞癌易复发和转移的特性可能与肿瘤的EMT机制形成的CSCs有关。然而, 肝内胆管细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 表达与ALDH1表达的

关系尚不明确。

基于此, 为了探讨 TGF- $\beta$ 1 与 ALDH1 的关系及在肝内胆管细胞癌中临床意义, 我们收集了 7 例正常胆管和 18 例胆管细胞癌组织, 检测了 TGF- $\beta$ 1 与 ALDH1 mRNA 水平的表达。同时, 我们收集了 58 例肝内胆管细胞癌石蜡标本, 通过免疫组化检测了 TGF- $\beta$ 1 与 ALDH1 在组织中蛋白水平的表达, 并分析他们与患者预后的关系。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 患者一般资料和组织标本

本研究选取 2000 年 1 月至 2009 年 12 月, 在中山大学肿瘤防治中心肝胆科行手术切除并且临床和随访资料完整的 58 例肝内胆管细胞癌患者。术后病理诊断均为胆管癌。标本获取均通过中山大学肿瘤防治中心伦理委员会讨论, 符合伦理学要求。肿瘤分化程度根据 Edmondson. Steiner 分级标准。肿瘤分期采用国际抗癌联盟(International Union Against Cancer, UICC)和美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)制订的第七版 TNM 分期标准。

另外收集 7 例正常胆管(取自胰头癌手术的远端胆管)、18 例胆管癌新鲜标本进行了研究, 所有的组织标本均归档和储存在组织标本库中,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存到使用。所有的组织学诊断经 H&E 染色证实。

### 2.2. 定量 PCR 检测

将 $-80^{\circ}\text{C}$  保存的正常胆管和胆管癌组织置于 1 ml Trizol 中, 使用提 RNA 专用的组织搅碎机搅拌 5 分钟, 沉淀 5 分钟后取上层液体提取 RNA, 逆转录为 cDNA, 用 Invitrogen 公司的 SYBER green 试剂盒进行实时荧光 PCR 实验。PCR 条件为:  $95^{\circ}\text{C}$  5 分钟预变性后,  $95^{\circ}\text{C}$  15 秒、 $65^{\circ}\text{C}$  35 秒(荧光检测), 40 个循环。PCR 结束后, 根据反应得到的  $C_p$  值, 使用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法的分析计算相对表达水平, 以标准曲线进行校正。引物 TGF- $\beta$ 1 为 F: TGGCGATACCTCAGCAACC、R: CTAAGGCGAAAGCCCTCAAT; ALDH1 为 F: GGGCAGCCATTTCTTCTCAC、R: ATTGTCCAAGTCGGCATCAG。

### 2.3. 免疫组化染色

所有收集的组织均经过 HE 染色证实为肝内胆管细胞癌。免疫组化染色采用二步法进行: 组织切片脱蜡、水化、枸橼酸盐修复抗原, PBS 洗 4 次后加入 3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶, 反应 10 分钟, 一抗  $4^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, PBS 洗 4 次后二抗室温孵育室温 30 分钟, 二氨基联苯氨(DAB)染色, 苏木素复染细胞核。结果判断由 2 名病理科医师双盲阅片。主要抗体包括: TGF- $\beta$ 1 鼠抗人单克隆抗体(Acris 公司, 德国), ALDH1 鼠抗人单克隆抗体(BD 公司, 美国)。

### 2.4. 结果评定

TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 的免疫组化结果采用十三分法进行评价。阳性强度计为 0 分(-)、1 分(+)、2 分(++)、3 分(+++); 阳性比率计为 0 分(<5%)、1 分(5%~25%)、2 分(25%~50%)、3 分(50%~75%)、4 分(>75%)。将两者分数相乘得总分。根据阳性强度和阳性比例评分乘积, 其表达可分为 2 个等级, 0~4 分定为低表达, 5~12 分定为高表达以进行预后分析。

### 2.5. 统计学分析

应用 SPSS18.0 软件(SPSS Inc. Chicago, IL)进行统计分析。计数资料用平均数  $\pm$  标准差表示, 组间比较采用 Student's t 检验,  $p < 0.05$  认为有差异, 相关性采用 Spearman 分析。定性资料组间比较采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确检验。生存分析采用 Kaplan-Meier 分析, 单因素分析采用 log-rank 检验, 将有意义的

单因素引入 Cox 模型多因素分析,  $p < 0.05$  认为有统计学意义。

### 3. 结果

#### 3.1. 胆管细胞癌组织中 TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 mRNA 水平的表达

为了研究 TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 在胆管细胞癌组织中的表达情况, 我们首先用定量 PCR 检测了 7 例正常胆管和 18 例胆管细胞癌组织中 TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 的 mRNA 水平。胆管细胞癌组织中 TGF- $\beta$ 1 比正常胆管中高, 两者之间具有统计学差异( $P = 0.046$ ) (图 1(A))。胆管细胞癌组织中 ALDH1 比正常胆管中稍高, 但无统计学差异( $P = 0.157$ ) (图 1(B))。通过 Spearman 相关性分析, TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 的表达水平正相关( $P = 0.012$ ) (图 1(C))。

#### 3.2. 肝内胆管细胞癌组织中 TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 蛋白水平的表达

我们用免疫组化检测了 58 例肝内胆管细胞组织中 TGF- $\beta$  和 ALDH 的表达情况。TGF- $\beta$ 1 在胆管癌组织中主要定位于胞浆和胞膜, 低表达组 28 例, 高表达组 30 例, 高表达阳性率为 51.72% (图 2(A), 图 2(B))。ALDH1 在胆管癌细胞中主要定位于胞浆, ALDH1 低表达组 23 例, 高表达组 35 例, 高表达阳性率为 60.34% (图 2(C), 图 2(D))。相关性分析提示 TGF- $\beta$ 1 与 ALDH1 的表达呈正相关( $\chi^2 = 77.632, P < 0.001$ ) (表 1)。

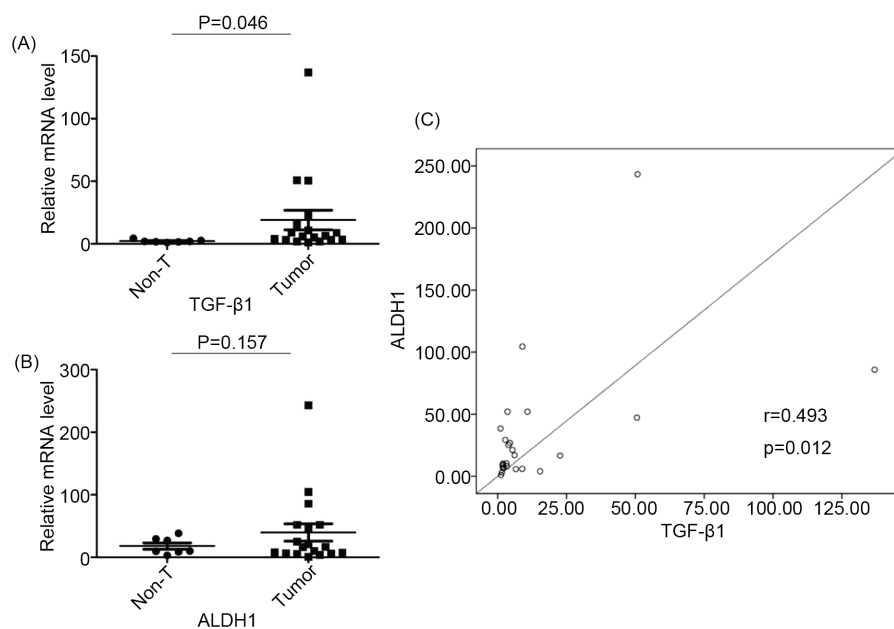
#### 3.3. TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 表达与肝内胆管细胞癌的临床预后分析

将 TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 分为低表达和高表达组, 在肝内胆管细胞癌进行临床病理特征的相关性分析, 结果提示: TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 的表达水平都与肿瘤分化相关( $P = 0.003$  或  $P = 0.011$ ) (表 2)。进一步进行预后分析发现: TGF- $\beta$ 1 低表达组的中位生存时间为 31.0 个月, TGF- $\beta$ 1 高表达组的中位生存时间为 10.7 个月, 高表达组总体生存时间短于低表达组( $P = 0.012$ ) (图 3(A)); ALDH1 低表达组的中位生存时间为 28.7 个月, ALDH1 高表达组的中位生存时间为 14.5 个月, 高表达组总体生存时间短于低表达组( $P = 0.033$ ) (图 3(B))。进行 Cox 回归模型分析, 结果提示: TGF- $\beta$ 1 表达水平、ALDH1 表达水平、肿瘤数目、TNM 分期是影响预后的相关因素, 多因素回归模型分析显示, TGF- $\beta$ 1 表达水平( $HR = 2.258, P = 0.014$ )、肿瘤数目以及 TNM 分期是预后的独立影响因素(表 3)。

### 4. 讨论

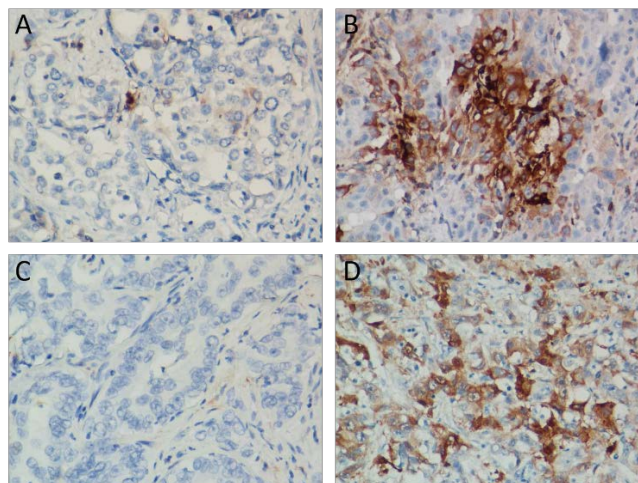
TGF- $\beta$ 1 在肿瘤中的作用复杂, 既可抑制肿瘤生长, 也可促进肿瘤生长[5]。有研究发现肿瘤中 TGF- $\beta$ 1 表达降低, 低于正常组织[6]。也有研究发现肿瘤中 TGF- $\beta$ 1 表达增加, 高于正常组织[7]。我们的研究与后者一致, 胆管细胞癌组织中 TGF- $\beta$ 1 的 mRNA 表达水平要高于正常胆管, 说明 TGF- $\beta$ 1 可能是胆管细胞癌发生的一个重要因素。TGF- $\beta$ 1 既可以由肿瘤细胞本身所分泌, 也有一部分来源于肿瘤间质细胞, 两者共同发挥作用[8]。目前, TGF- $\beta$ 1 表达与患者预后的关系尚存在争议。在肺腺癌组织中的免疫组化检测发现, TGF- $\beta$ 1 表达水平与患者的预后呈负相关, TGF- $\beta$ 1 高表达的患者生存率要低于低表达者[9]。而在宫颈癌组织的 PCR 检测, 未发现 TGF- $\beta$ 1 表达水平与患者的临床预后有明显的相关[10]。另外有研究发现在肝癌组织中 TGF- $\beta$ 1 的 mRNA 表达水平与患者总体预后正相关, TGF- $\beta$ 1 高表达组临床预后更好[11]。以上结果的差异可能与各研究者所采用的检测方法不一致有关。我们的研究发现肝内胆管细胞癌组织中的 TGF- $\beta$ 1 表达水平与术后总体生存成负相关, 低表达组生存时间较长, 而且 TGF- $\beta$ 1 表达水平是肝内胆管细胞癌患者术后总体生存的独立预后指标, 提示 TGF- $\beta$ 1 可促进肝内胆管细胞癌的发展。

同时, 我们也相应的检测了 ALDH1 在肝内胆管细胞癌组织中的表达水平。ALDH1 在胆管癌组织中 mRNA 的表达和正常胆管无明显差异, 可能是因为 ALDH1 是正常组织和肿瘤通用的干细胞标记, 而正



**Figure 1.** The expression levels of the mRNAs encoding TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 in normal bile ducts and CCA tissues

**图 1.** 定量 PCR 检测正常胆管和胆管细胞癌中 TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 的表达。(A) TGF- $\beta$ 1, (B) ALDH1, (C) 相关性



**Figure 2.** Representative images of TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 staining in ICC

**图 2.** 免疫组化检测 TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 在肝内胆管细胞癌组织中的表达。(A) TGF- $\beta$ 1 低表达, (B) TGF- $\beta$ 1 高表达, (C) ALDH1 低表达, (D) ALDH1 高表达

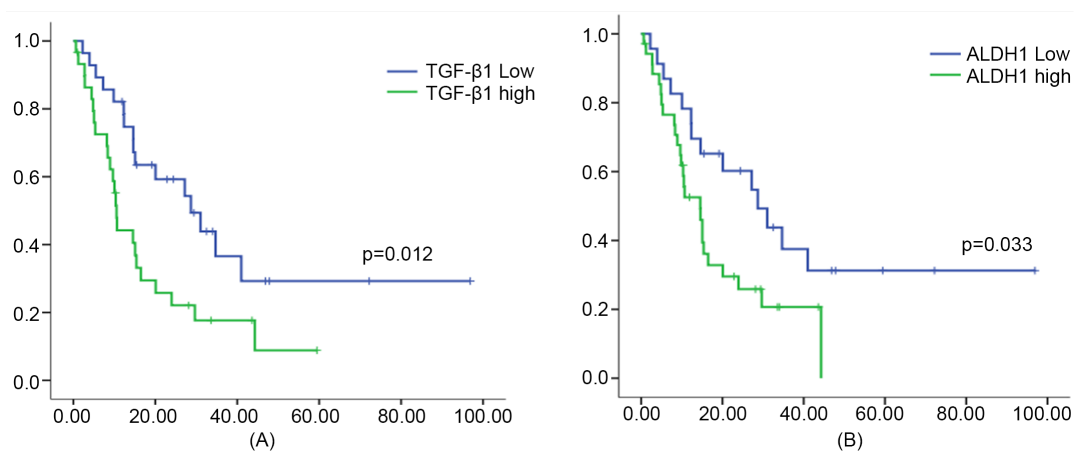
**Table 1.** The relationship between TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 expression in ICC

**表 1.** 肝内胆管细胞癌组织中 TGF- $\beta$ 1 与 ALDH1 的相关性

		ALDH1		Total
		Low	High	
TGF- $\beta$ 1	Low	21	7	28
	High	2	28	30
Total		23	35	58

**Table 2.** Clinicopathological characteristics of TGF- $\beta$ 1 and ALDH1 in ICC patients  
**表 2.** TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 的表达与肝内胆管细胞癌临床病理特征的关系

	TGF- $\beta$ 1		P	ALDH1		P
	Low	High		Low	High	
Age:						
≤53	13	20	0.124	13	20	0.964
>53	15	10		10	15	
Gender:						
male	18	24	0.187	15	27	0.329
female	10	6		8	8	
CA19-9:						
≤100 u/ml	16	21	0.317	11	26	0.041
>100 u/ml	12	9		12	9	
Hepatitis:						
No	17	15	0.421	13	19	0.870
Yes	11	15		10	16	
Liver cirrhosis:						
No	17	17	1.000	14	20	0.985
Yes	11	11		9	13	
Tumor number:						
Solitary	19	18	0.542	15	22	0.858
Multiple	9	12		8	13	
Tumor size:						
≤5 cm	12	10	0.464	11	11	0.215
>5 cm	16	20		12	24	
Tumor differentiation:						
I+II	18	8	0.003	15	11	0.011
III+IV	10	22		8	24	
Lymph node metastasis:						
No	18	21	0.650	15	24	0.794
Yes	10	9		8	11	
TNM stage:						
I+II	15	14	0.607	12	17	0.793
III A+III B+III C	13	16		11	18	



**Figure 3.** Kaplan-Meier plots of patient overall survival in ICC

**图 3.** TGF- $\beta$ 1 和 ALDH1 在 ICC 中的总体生存曲线。(A) TGF- $\beta$ 1, (B) ALDH1

**Table 3.** Univariate and multivariate analyses associated with survival in ICC  
**表 3.** 肝内胆管细胞癌预后因素的 Cox 回归模型因素分析

Variables	Univariate p value <sup>a</sup>	Multivariate		
		HR	95% CI	p value <sup>b</sup>
Age:>53 vs. ≤53 (years)	0.991			NA
Gender: male vs. female	0.085			NA
CA19-9: >100 vs. ≤100	0.073			NA
Hepatitis: yes vs. no	0.979			NA
Liver cirrhosis: yes vs. no	0.059			NA
Tumor number: multiple vs. solitary	0.002	2.148	1.065~4.329	0.033
Tumor size: >5 vs. ≤5 (cm)	0.035			NS
Tumor differentiation: I+II/III+IV	0.070			NA
Lymph node metastasis: yes vs. no	0.006			NS
TNM stage: I+II/IIIA+IIIB+IIIC	0.001	2.230	1.077~4.620	0.031
TGF-β1: high vs. low	0.012	2.258	1.179~4.324	0.014
ALDH1: high vs. low	0.033			NS

TNM = tumor-node-metastasis; HR = hazard ratio; CI = confidence interval; NA = not applicable; NS = not significant.

常的胆管干细胞也会有 ALDH1 的表达。我们通过连续切片的免疫组化发现 ALDH1 和 TGF-β1 可以表达在组织中共同的区域内, 并且相关性分析也证明两者密切相关。同时, 我们发现 TGF-β1 和 ALDH1 在分化程度较低的癌组织中表达更高, 反映它们主要表达在恶性程度较高的细胞群中。基于干细胞理论, CSCs 是维持肿瘤恶性行为和持续生长的主要根源, 那么其细胞形态结构将更加原始且处于细胞周期外的静止期, 在免疫组化染色下这些细胞就可能表现为分化较低的细胞群。因此, 以上结果也进一步证实了 TGF-β1 和 ALDH1 与 CSCs 关系密切。另外, 预后分析表明 ALDH1 在肝内胆管细胞癌组织中的表达与患者术后总体生存呈负相关。此结果也与其他类型肿瘤中的研究结果保持一致[12] [13] [14]。

综上所述, 本文对肝内胆管细胞癌组织中 TGF-β1 和 ALDH1 表达水平的检测发现: TGF-β1 在胆管细胞癌组织中的表达高于正常胆管, 提示其可能是胆管细胞癌潜在的肿瘤标志物; TGF-β1 与 ALDH1 表达具有相关性, 并且均与肝内胆管细胞癌的患者术后总体生存呈负相关; TGF-β1 可作为肝内胆管细胞癌患者术后独立的预后预测指标。

## 参考文献 (References)

- [1] Shaib, Y. and El-Serag, H.B. (2004) The Epidemiology of Cholangiocarcinoma. *Seminars in Liver Disease*, **24**, 115-125. <https://doi.org/10.1055/s-2004-828889>
- [2] Blehacz, B.R. and Gores, G.J. (2008) Cholangiocarcinoma. *Clinical Liver Disease*, **12**, 131-150. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2007.11.003>
- [3] Tomita, H., Tanaka, K., Tanaka, T. and Hara, A. (2016) Aldehyde Dehydrogenase 1A1 in Stem Cells and Cancer. *Oncotarget*, **7**, 11018-11032. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6920>
- [4] Bellomo, C., Caja, L. and Moustakas, A. (2016) Transforming Growth Factor β as Regulator of Cancer Stemness and Metastasis. *British Journal of Cancer*, **115**, 761-769. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.255>
- [5] Shi, Y. and Massagué, J. (2003) Mechanisms of TGF-Beta Signaling from Cellmembrane to the Nucleus. *Cell*, **113**, 685-700. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00432-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00432-X)
- [6] Paik, S.Y., Park, Y.N., Kim, H. and Park, C. (2003) Expression of Transforming Growth Factor-Beta1 and Transform-

- ing Growth Factor-Beta Receptors in Hepatocellular Carcinoma and Dysplastic Nodules. *Modern Pathology*, **16**, 86-96. <https://doi.org/10.1097/01.MP.0000047308.03300.9C>
- [7] Bedossa, P., Peltier, E., Terris, B., Franco, D. and Poynard, T. (1995) Transforming Growth Factor-Beta 1 (TGF-Beta 1) and TGF-Beta 1 Receptors in Normal, Cirrhotic, and Neoplastic Human Livers. *Hepatology*, **21**, 760-766.
- [8] Tirado-Rodriguez, B., Ortega, E., Segura-Medina, P. and Huerta-Yepez, S. (2014) TGF- $\beta$ 1: An Important Mediator of Allergic Disease and a Molecule with Dual Activity in Cancer Development. *Journal of Immunology Research*, Article ID: 318481. <https://doi.org/10.1155/2014/318481>
- [9] Takanami, I., Imamura, T., Hashizume, T., Kikuchi, K., Yamamoto, Y. and Kodaira, S. (1994) Transforming Growth Factor Beta 1 as a Prognostic Factor in Pulmonary Adenocarcinoma. *Journal of Clinical Pathology*, **47**, 1098-1100. <https://doi.org/10.1136/jcp.47.12.1098>
- [10] Hazelbag, S., Kenter, G.G., Gorter, A. and Fleuren, G.J. (2004) Prognostic Relevance of TGF-Beta1 and PAI-1 in Cervical Cancer. *International Journal of Cancer*, **112**, 1020-1028. <https://doi.org/10.1002/ijc.20512>
- [11] Ikeguchi, M., Iwamoto, A., Taniguchi, K., Katano, K. and Hirooka, Y. (2005) The Gene Expression Level of Transforming Growth Factor-Beta (TGF-Beta) as a Biological Prognostic Marker of Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **24**, 415-421.
- [12] Ginestier, C., Hur, M.H., Charafe-Jauffret, E., Monville, F., Dutcher, J., Brown, M., Jacquemier, J., Viens, P., Kleer, C.G., Liu, S., Schott, A., Hayes, D., Birnbaum, D., Wicha, M.S. and Dontu, G. (2007) 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. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.08.014>
- [13] Minato, T., Yamamoto, Y., Seike, J., Yoshida, T., Yamai, H., Takechi, H., Yuasa, Y., Furukita, Y., Goto, M., Bando, Y. and Tangoku, A. (2013) Aldehyde Dehydrogenase Expression Is Associated with Poor Prognosis in Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Annals of Surgical Oncology*, **20**, 209-217. <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2535-8>
- [14] Wu, A., Luo, W., Zhang, Q., Yang, Z., Zhang, G., Li, S. and Yao, K. (2013) Aldehyde Dehydrogenase, a Functional Marker for Identifying Cancer Stem Cells in Human Carcinoma. *Cancer Letter*, **330**, 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.11.046>

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [md@hanspub.org](mailto:md@hanspub.org)