

Janina Markowska¹, Zbigniew Kojs², Damian Twardawa³

Komórki macierzyste raka jako tarcza dla terapii celowanej

Cancer stem cells in targeted therapy

¹ Katedra i Klinika Onkologii, Oddział Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska

² Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie, Kraków, Polska

³ Swedish Orphan Biovitrum, Warszawa, Polska

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. n. med. Janina Markowska, Katedra i Klinika Onkologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań, e-mail: jmarkmed@poczta.onet.pl

¹ Division of Oncology, Department of Gynecologic Oncology, Poznan University of Medical Sciences, Poznań, Poland

² Department of Gynecologic Oncology, Center of Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Institute, Krakow Branch, Krakow, Poland

³ Swedish Orphan Biovitrum, Warsaw, Poland

Correspondence: Professor Janina Markowska, MD, PhD, Division of Oncology, Poznan University of Medical Sciences, Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań, Poland, e-mail: jmarkmed@poczta.onet.pl

Streszczenie

Jedną z przyczyn niepowodzeń leczenia chorych na nowotwory złośliwe jest istnienie komórek macierzystych raka (*cancer stem cells*, CSCs). Stanowią one tylko 2% masy guza, ale mają unikalne właściwości, takie jak samoodnawianie, nieograniczona proliferacja, niesymetryczne podziały i przebywanie w stanie utajenia (*dormant cells*). Komórki macierzyste raka są odporne na standardowe leczenie (chemio- i radioterapię), powodują więc progresję raka, przerzutowanie i nawroty. Mają swoiste biomarkery, na których podstawie identyfikuje się je oraz izoluje. Do najczęściej wykrywanych markerów w raku piersi, jajnika, endometrium, a także w innych lokalizacjach narządowych należą: CD44+, C117 (c-Kit), CD133+ (promina), ALDH1 (dehydrogenaza aldehydowa 1), Oct-4 (POU5F1), nestyna i BMI1. Komórki macierzyste raka korzystają z licznych szlaków sygnalowania (Wnt, SHH – *sonic hedgehog homologue*, PI3K/AKT/mTOR). Badania wykazały, że można uzyskać kliniczną korzyść, stosując salinomycynę (antybiotyk wyizolowany ze *Streptomyces albus*) albo lek przeciwcukrzycowy – metforminę. Trwają badania nad terapią celowaną: tarczą mogą być zarówno biomarkery komórek macierzystych raka, jak i szlaki sygnalowania (lub ich składowe), z których one korzystają. W centrum zainteresowania są również mikroRNA, koordynujące ekspresję wielu genów, i strategie metaboliczne celowane na mitochondria komórkowe.

Słowa kluczowe: CSCs, biomarkery CSCs, szlaki sygnalizacyjne, salinomycyna, metformina

Abstract

Cancer stem cells (CSCs) are one of the causes of failure in the treatment of patients with malignant tumors. Although these cells account for only about 2% of the tumor mass, they possess unique properties, such as self-renewal, unlimited proliferation, asymmetric cell division and the ability to form dormant cells. Cancer stem cells are responsible for treatment failure as they are resistant to standard anticancer treatment (chemo- and radiotherapy), leading to cancer progression, metastases and relapse. They carry specific biomarkers which enable their identification and isolation. The most common markers identified in breast, ovarian, and endometrial cancer as well as in other localizations include: CD44+, C117 (c-Kit), CD133+ (promin), ALDH1 (aldehyde dehydrogenase 1), Oct-4 (POU5F1), nestin and BMI1. Cancer stem cells take advantage of numerous signaling pathways (Wnt, SHH – *sonic hedgehog homologue*, PI3K/AKT/mTOR). Studies have demonstrated that clinical advantage can be gained using salinomycin (an antibiotic isolated from *Streptomyces albus*), or metformin, an antidiabetic drug. Research is continued on targeted therapy aimed at cancer stem cells: both cancer stem cell biomarkers or signaling pathways (their components) used by cancer stem cells may be targeted. Studies on microRNA, which coordinates the expression of multiple genes, and on metabolic strategies targeting cellular mitochondria are underway.

Keywords: CSCs, CSC biomarkers, signaling pathways, salinomycin, metformin

WSTĘP

Jedną z przyczyn niepowodzeń leczenia onkologicznego jest istnienie komórek macierzystych raka (*cancer stem cells*, CSCs). Pochodzą one najprawdopodobniej z macierzystych komórek somatycznych, które uległy transformacji pod wpływem różnych czynników: genetycznych i epigenetycznych.

Według licznych badań ta mała subpopulacja niezróżnicowanych komórek, stanowiąca około 2% masy guza, ma unikalne właściwości – zdolność do samoodnowy, nieograniczonej proliferacji i przebywania w stanie nieaktywnym jako *dormant cells*. CSCs mieszczą się w niszach naczyniowych w bliskości komórek endotelialnych; biorą udział w kontaktach z licznymi molekułami mikrośrodowiska, co ułatwia im przeżycie i sprzyja nabywaniu złośliwego fenotypu⁽¹⁻⁴⁾.

CSCs wpływają na inicjację raka (*cancer initiating cells*, CICs), inwazję, przerzutowanie oraz wznowę. Są odporne na standardowe leczenie onkologiczne: chemio- i radioterapię. Można je identyfikować oraz izolować, ponieważ mają charakterystyczne biomarkery, swoiste dla różnych typów raka; raki nawrotowe mogą mieć inny portret markerowy od pierwotnych^(1,5-8).

MARKERY CSCs I ICH ZNACZENIE

W różnych typach histologicznych i różnych lokalizacjach narządowych raka często występują te same markery, które biorą udział w podtrzymaniu cech typowych dla CSCs, w tym samoodnowy, inicjacji guza i przerzutowania. Są także związane z odpowiedzią na leczenie cytostatykami, mają znaczenie prognostyczne i mogą być tarczą dla terapii celowanej^(2,9-12).

W przypadku raka piersi, jajnika, endometrium i szyjki macicy do najczęściej wykrywanych markerów należą^(2,11-17):

- CD44+, C117 (c-Kit) – znane jako komórki inicjujące raka jajnika. Ich ekspresja ma związek z niekorzystnym przebiegiem klinicznym wielu nowotworów ginekologicznych.
- CD133+ (promina), ALDH1 (dehydrogenaza aldehydowa 1) – ich ekspresja wiąże się z opornością na pochodne platyny i taksany. Stanowią niezależny czynnik prognostyczny złego rokowania.
- Oct-4 (POU5F1), nestyna, BMI1 – są czynnikami transkrypcyjnymi, mają związek z samoodnową CSCs i opornością na cytostatyki. W wielu nowotworach korelują ze złą prognozą.

SZLAKI SYGNAŁOWANIA – ZWIĄZEK Z CSCs

Od wielu lat trwają próby eradykacji CSCs, czyli ich zniszczenia lub zróżnicowania. Terapie celowane skupiają się na szlakach sygnałowania, z których korzystają CSCs⁽¹⁸⁾. Kluczowe znaczenie dla zdolności samoodnowy i przeżycia CSCs mają następujące szlaki:

INTRODUCTION

Cancer stem cells (CSCs) are one of the reasons for failure in anticancer treatment. They most likely derive from somatic stem cells that have undergone transformation under the influence of various genetic and epigenetic factors.

Numerous studies indicate that this small subpopulation of undifferentiated cells, which account for only about 2% of the tumor mass, has unique properties, such as self-renewal, unlimited proliferation, and the ability to form inactive dormant cells. CSCs are located in the vascular niches near the endothelial cells; they are involved in the contact between multiple microenvironmental molecules, which promotes both their survival and acquiring malignant phenotype⁽¹⁻⁴⁾.

CSCs promote cancer development (cancer initiating cells, CICs), invasion, metastasis and recurrence. They are resistant to standard anticancer treatment (chemotherapy and radiation therapy). CSCs carry specific biomarkers specific for different types of cancer, which enable their identification and isolation; recurrent tumors may display other makers compared to primary tumors^(1,5-8).

CSC MARKERS AND THEIR ROLE

The same markers that contribute to maintaining properties typical for CSCs, including self-renewal, tumor initiation and metastasis, are often found in different histological types and organ sites. They are also associated with response to cytostatic treatment, have a prognostic value and may be targets for therapy^(2,9-12).

The most commonly detected markers in breast, ovarian, endometrial and cervical cancer include^(2,11-17):

- CD44+, C117 (c-Kit) – known as cancer initiating cells. Their expression is associated with unfavorable clinical course of many gynecologic cancers.
- CD133+ (promin), ALDH1 (aldehyde dehydrogenase 1) – their expression confers resistance to platinum derivatives and taxanes. They are an independent prognostic factor for poor prognosis.
- Oct-4 (POU5F1), nestin, BMI1 – transcription factors associated with CSC self-renewal and resistance to cytostatics. They are correlated with poor prognosis in many tumors.

SIGNALING PATHWAYS AND CSCs

For many years, attempts have been made to eradicate CSCs, i.e. to induce their destruction or differentiation. Targeted therapies focus on signaling pathways utilized by CSCs⁽¹⁸⁾. The following pathways are of key importance for CSC renewal and survival:

- Notch – a conservative pathway controlling replication, survival and differentiation of CSCs. It plays a critical role in the renewal of CSCs and is associated with angiogenesis.

- Notch – konserwatywny szlak kontrolujący replikację, przetrwanie i różnicowanie CSCs. Odgrywa krytyczną rolę w samoodnowie CSCs i ma związek z angiogenezą. Opisano próby celowane na ten szlak z wykorzystaniem mikroRNA-34a (mały niekodujący RNA złożony z 18–25 nukleotydów) i przeciwciała monoklonalnego (mA6) na modelu zwierzęcym^(3,9,19).
- Wnt – zapewnia komórkom macierzystym zdolność samoodnowy i ochronę przed różnicowaniem. Białka należące do sieci tego szlaku pozostają w ścisłym kontakcie z białkami macierzy pozakomórkowej, wpływając na ruchliwość i adhezję komórek. Ze szlakiem Wnt związany jest gen supresorowy *PTEN*, którego mutacja decyduje o agresywnym przebiegu wielu nowotworów złośliwych, w tym raka endometrium. Na modelu zwierzęcym wykazano, że zastosowane przeciwciało (mAb) przeciwko Wnt3A miało antyproliferacyjny wpływ na CSCs i działanie proapoptyczne^(2,19).
- Shh (*sonic hedgehog homolog*) – zaangażowany jest w kontrolę proliferacji i różnicowanie komórek. Wpływa na białka związane z opornością na chemioterapię^(19,20).
- PI3K/AKT/mTOR – wiąże się z proliferacją komórek i hamowaniem apoptozy. Zwiększoną aktywność tego szlaku opisano w wielu nowotworach (również w raku jajnika i endometrium). Jego ekspresję wykazują CSCs/CICs – pozwala im to na przetrwanie oraz na inicjowanie raka⁽²¹⁾.

SALINOMYCINA – WPŁYW NA CSCs

Salinomycyna jest antybiotykiem wyizolowanym ze szczepu bakterii *Streptomyces albus*. Wpływa na zaburzenia równowagi jonów w komórkach i spadek stężenia K⁺ w mitochondriach komórek, powodując ich apoptozę. W 2009 roku ogłoszono, że antybiotyk ten jest 100 razy bardziej efektywny w eradykacji CSCs raka piersi niż taksol. Opisano aktywność salinomycyny w wielu typach raka – zarówno na liniach komórkowych oraz modelach zwierzęcych, jak i u ludzi^(22–24).

Mechanizm działania salinomycyny polega na hamowaniu transporterów przeciwbłonkowych ABC oraz aktywności *MDR1* i czynnika transkrypcyjnego NF-κB, a także na stymulacji ekspresji genu apoptycznego *BAX* i kaspazy 3 (enzymu wykonawczego śmierci komórkowej). Wpływa również na supresję szlaku MAPK. Salinomycyna zdolna jest do różnicowania CSCs, wpływa na komórki odporne na taksol i cisplatynę^(25–29). W praktyce klinicznej stosowana była z dobrym efektem u chorych na raka sromu i piersi⁽³⁰⁾.

METFORMINA – WPŁYW NA CSCs

Metformina jest lekiem od ponad 50 lat stosowanym w leczeniu cukrzycy typu 2, zwłaszcza u osób otyłych. Działanie leku jest pleiotropowe: hamuje on sygnałowanie mTOR poprzez aktywację szlaku LKB1/AMPK (*liver kinase B1/adenosine monophosphate-activated protein kinase*).

Attempts to target Notch using microRNA-34a (small non-coding RNA of 18–25 nucleotides) and a monoclonal antibody (mA6) in an animal model have been described^(3,9,19).

- Wnt – provides stem cells with the ability of self-renewal and protection against differentiation. Proteins belonging to this pathway remain in close contact with extracellular matrix proteins, thus affecting cellular motility and adhesion. A suppressive gene *PTEN*, which, when mutated, promotes aggressive course in many malignancies, including endometrial cancer, is associated with the Wnt pathway. It was shown in an animal model that an anti-Wnt3A antibody (mAb) had antiproliferative effects on CSCs and showed proapoptotic activity^(2,19).
- Shh (sonic hedgehog homolog) – controls the proliferation and differentiation of cells. It affects proteins associated with resistance to chemotherapy^(19,20).
- PI3K/AKT/mTOR – is associated with cellular proliferation and apoptosis inhibition. Increased activity of this pathway was reported in a number of tumors (including ovarian and endometrial cancer). It is expressed in CSCs/CICs, promoting their survival and cancer initiation⁽²¹⁾.

SALINOMYCIN – EFFECTS ON CSCs

Salinomycin is an antibiotic isolated from *Streptomyces albus*. It induces cellular ion imbalance and decreases K⁺ levels in cellular mitochondria, leading to their apoptosis. In 2009, the antibiotic was reported to be 100 times more effective than taxol in eradicating breast CSCs. Salinomycin has been shown to be active in many types of cancer – both in cell lines as well as in animal models and humans^(22–24).

The mechanism of action of salinomycin involves the inhibition of ABC transmembrane transporters, inhibition of *MDR1* and NF-κB activity as well as stimulation of *BAX* (apoptotic gene) and caspase 3 (an executive enzyme of apoptosis) expression. It is also involved in the suppression of MAPK. Salinomycin is able to induce differentiation of CSCs, and has effects on taxol- and cisplatin-resistant cells^(25–29). In clinical practice, the agent was used in patients with vulvar and breast cancer with good therapeutic effect⁽³⁰⁾.

METFORMIN – EFFECTS ON CSCs

Metformin has been used for over 50 years in the treatment of type 2 diabetes mellitus, particularly in obese patients. The drug shows pleiotropic effects: it inhibits mTOR signaling by activating the LKB1/AMPK (liver kinase B1/adenosine monophosphate-activated protein kinase) pathway, thus limiting cellular growth and division as well as protein synthesis and angiogenesis.

Metformin shows protective activity in malignant cancers^(31–33). Population studies have shown that when

Ogranicza to wzrost i podział komórek oraz syntezę białek i angiogenezę.

W przypadku nowotworów złośliwych metformina pełni funkcję protekcyjną^(31–33). Wyniki badań populacyjnych dowiodły, że stosowana u ludzi z cukrzycą typu 2 obniża zachorowalność na raka w różnych lokalizacjach, a zatem wykazuje działanie profilaktyczne. Stwierdzono też, że lek zwiększa odsetek 5-letnich przeżyć wśród pacjentów onkologicznych^(34–36). Jednym z mechanizmów działania metforminy jest wpływ na CSCs, głównie przez hamowanie szlaku sygnalizacyjnego PI3K/AKT/mTOR^(37–39).

IMPLIKACJE KLINICZNE

Badania nad eradykacją CSCs wciąż trwają. Sugeruje się rolę mikroRNA, które koordynują ekspresję wielu genów, wpływając na proliferację CSCs. Rozpatruje się również CSCs jako tarczę dla immunoterapii oraz strategię metaboliczne celowane na mitochondria komórkowe^(40–42).

Konflikt interesów

Damian Twardawa jest pracownikiem firmy Swedish Orphan Biovitrum. Pozostali autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo / References

1. Tomao F, Papa A, Rossi L et al.: Emerging role of cancer stem cells in the biology and treatment of ovarian cancer: basic knowledge and therapeutic possibilities for an innovative approach. *J Exp Clin Cancer Res* 2013; 32: 48.
2. Phi LTH, Sari IN, Yang YG et al.: Cancer stem cells (CSCs) in drug resistance and their therapeutic implications in cancer treatment. *Stem Cells Int* 2018; 2018: 5416923.
3. Venkatesh V, Nataraj R, Thangaraj GS et al.: Targeting Notch signalling pathway of cancer stem cells. *Stem Cell Investig* 2018; 5: 5.
4. Ping YF, Zhang X, Bian XW: Cancer stem cells and their vascular niche: do they benefit from each other? *Cancer Lett* 2016; 380: 561–567.
5. Gopalan V, Islam F, Lam AK: Surface markers for the identification of cancer stem cells. *Methods Mol Biol* 2018; 1692: 17–29.
6. Klonisch T, Wiehac E, Hombach-Klonisch S et al.: Cancer stem cell markers in common cancers – therapeutic implications. *Trends Mol Med* 2008; 14: 450–460.
7. Nassar D, Blanpain C: Cancer stem cells: basic concepts and therapeutic implications. *Annu Rev Pathol* 2016; 11: 47–76.
8. Zeng J, Ruan J, Luo L et al.: Molecular portraits of heterogeneity related to cancer stem cells in human ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2014; 24: 29–35.
9. Wang L, Zuo X, Xie K et al.: The role of CD44 and cancer stem cells. *Methods Mol Biol* 2018; 1692: 31–42.
10. Neradil J, Veselska R: Nestin as a marker of cancer stem cells. *Cancer Sci* 2015; 106: 803–811.
11. Lin J, Ding D: The prognostic role of the cancer stem cell marker CD44 in ovarian cancer: a meta-analysis. *Cancer Cell Int* 2017; 17: 8.
12. Cao L, Bombard J, Cintron K et al.: BMI1 as a novel target for drug discovery in cancer. *J Cell Biochem* 2011; 112: 2729–2741.

used in patients with type 2 diabetes, it reduces the risk of cancer at various sites, and therefore shows prophylactic activity. It was also found that the drug increases 5-year survival rates in cancer patients^(34–36). One of the mechanisms of action of metformin involves the effects on CSCs, mainly by inhibiting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway^(37–39).

CLINICAL IMPLICATIONS

Studies on eradication of CSCs are still continued. The role of microRNA, which coordinates the expression of multiple genes, thus affecting CSC proliferation, has been suggested. Targeting CSCs in immunotherapy and metabolic strategies targeting cellular mitochondria are also contemplated^(40–42).

Conflict of interest

Damian Twardawa is an employee of the Swedish Orphan Biovitrum. The other authors do not report any financial or personal connections with other persons or organizations, which might negatively affect the contents of this publication and/or claim authorship rights to this publication..

13. Kyo S, Kato K: Endometrial cancer stem cell as a potential therapeutic target. *Semin Reprod Med* 2015; 33: 341–349.
14. Hou T, Zhang W, Tong C et al.: Putative stem cell markers in cervical squamous cell carcinoma are correlated with poor clinical outcome. *BMC Cancer* 2015; 15: 785.
15. Carrasco E, Alvarez PJ, Prados J et al.: Cancer stem cells and their implication in breast cancer. *Eur J Clin Invest* 2014; 44: 678–687.
16. Yang F, Xu J, Tang L et al.: Breast cancer stem cell: the roles and therapeutic implications. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74: 951–966.
17. Ruscito I, Cacsire Castillo-Tong D, Vergote I et al.: Exploring the clonal evolution of CD133/aldehyde-dehydrogenase-1 (ALDH1)-positive cancer stem-like cells from primary to recurrent high-grade serous ovarian cancer (HGSOC). A study of the Ovarian Cancer Therapy-Innovative Models Prolong Survival (OCTIPS) Consortium. *Eur J Cancer* 2017; 79: 214–225.
18. Massard C, Deutsch E, Soria JC: Tumour stem cell-targeted treatment: elimination or differentiation. *Ann Oncol* 2006; 17: 1620–1624.
19. Takebe N, Miele L, Harris PJ et al.: Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: clinical update. *Nat Rev Clin Oncol* 2015; 12: 445–464.
20. Kotsopoulos IC, Papanikolaou A, Lambropoulos AF et al.: Serous ovarian cancer signaling pathways. *Int J Gynecol Cancer* 2014; 24: 410–417.
21. Yasuda K, Hirohashi Y, Kuroda T et al.: MAPK13 is preferentially expressed in gynecological cancer stem cells and has a role in the tumor-initiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 472: 643–647.
22. Miyazaki Y, Shibuya M, Sugawara H et al.: Salinomycin, a new polyether antibiotic. *J Antibiot (Tokyo)* 1974; 27: 814–821.
23. Antoszczak M, Huczynski A: Anticancer activity of polyether ionophore – salinomycin. *Anticancer Agents Med Chem* 2015; 15: 575–591.
24. Gupta PB, Onder TT, Jiang G et al.: Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. *Cell* 2009; 138: 645–659.

25. Kim JH, Yoo HI, Kang HS et al.: Salinomycin sensitizes antimetabolic drugs-treated cancer cells by increasing apoptosis via the prevention of G2 arrest. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 418: 98–103.
26. Zhang B, Wang X, Cai F et al.: Antitumor properties of salinomycin on cisplatin-resistant human ovarian cancer cells *in vitro* and *in vivo*: involvement of p38 MAPK activation. *Oncol Rep* 2013; 29: 1371–1378.
27. Kaplan F, Teksen F: Apoptotic effects of salinomycin on human ovarian cancer cell line (OVCAR-3). *Tumour Biol* 2016; 37: 3897–3903.
28. Chung H, Kim YH, Kwon M et al.: The effect of salinomycin on ovarian cancer stem-like cells. *Obstet Gynecol Sci* 2016; 59: 261–268.
29. Parajuli B, Shin SJ, Kwon SH et al.: Salinomycin induces apoptosis via death receptor-5 up-regulation in cisplatin-resistant ovarian cancer cells. *Anticancer Res* 2013; 33: 1457–1462.
30. Naujokat C, Steinhart R: Salinomycin as a drug for targeting human cancer stem cells. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 950658.
31. Minamii T, Nogami M, Ogawa W: Mechanisms of metformin action: in and out of the gut. *J Diabetes Investig* 2018; 9: 701–703.
32. Kalender A, Selvaraj A, Kim SY et al.: Metformin, independent of AMPK, inhibits mTORC1 in a rag GTPase-dependent manner. *Cell Metab* 2010; 11: 390–401.
33. Del Barco S, Vazquez-Martin A, Cufi S et al.: Metformin: multi-faceted protection against cancer. *Oncotarget* 2011; 2: 896–917.
34. Noto H, Goto A, Tsujimoto T et al.: Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e33411.
35. Dilokthornsakul P, Chaiyakunapruk N, Termrungruanglert W et al.: The effects of metformin on ovarian cancer: a systematic review. *Int J Gynecol Cancer* 2013; 23: 1544–1551.
36. Kumar S, Meuter A, Thapa P et al.: Metformin intake is associated with better survival in ovarian cancer: a case-control study. *Cancer* 2013; 119: 555–562.
37. Zhang R, Zhang P, Wang H et al.: Inhibitory effects of metformin at low concentration on epithelial-mesenchymal transition of CD44⁺CD117⁺ ovarian cancer stem cells. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6: 262.
38. Saini N, Yang X: Metformin as an anti-cancer agent: actions and mechanisms targeting cancer stem cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2018; 50: 133–143.
39. Zhao Y, Sun H, Feng M et al.: Metformin is associated with reduced cell proliferation in human endometrial cancer by inhibiting PI3K/AKT/mTOR signaling. *Gynecol Endocrinol* 2018; 34: 428–432.
40. Kaur G, Sharma P, Dogra N et al.: Eradicating cancer stem cells: concepts, issues, and challenges. *Curr Treat Options Oncol* 2018; 19: 20.
41. De Francesco EM, Sotgia F, Lisanti MP: Cancer stem cells (CSCs): metabolic strategies for their identification and eradication. *Biochem J* 2018; 475: 1611–1634.
42. Mens MMJ, Ghanbari M: Cell cycle regulation of stem cells by microRNAs. *Stem Cell Rev* 2018; 14: 309–322.