

Mối liên quan giữa đồng biểu hiện HER2, CD44, ALDH với đặc điểm nội soi và mô bệnh học trong ung thư biểu mô tuyến dạ dày

Association between HER2, CD44, ALDH co-expression with endoscopic and histopathological characteristics in gastric adenocarcinoma

Nguyễn Khắc Tấn*,
Luu Thị Bình**,
Phan Quốc Hoàn***,
Nguyễn Phú Hùng****

*Phòng khám Đa khoa các cơ quan Đảng ở TW,
**Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên,
***Bệnh viện Trung ương Quân đội 108,
****Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân tích mối liên quan giữa dấu ấn hóa mô miễn dịch HER2, CD44, ALDH với đặc điểm nội soi và mô bệnh học trong ung thư biểu mô tuyến dạ dày. *Đối tượng và phương pháp:* Nghiên cứu mô tả cắt ngang; thiết kế tiến cứu trên 107 bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư biểu mô tuyến dạ dày và được phẫu thuật cắt bỏ khối u tại Bệnh viện K. Phân tích mối liên quan giữa HER2, CD44, ALDH và các thông số. *Kết quả:* Bệnh nhân u thể ruột có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn là 14,1%, có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học Lauren, $p < 0,05$. Bệnh nhân u thể tuyến nhầy có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn cao nhất với 16,7%, có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học WHO, $p < 0,05$. *Kết luận:* Sự biểu hiện đồng thời của HER2, CD44, ALDH có mối liên quan với các yếu tố như đặc điểm mô bệnh học Lauren, đặc điểm mô bệnh học WHO ở bệnh nhân UTBMTDD.

Từ khóa: Dấu ấn miễn dịch HER2, CD44, ALDH, hóa mô miễn dịch, ung thư biểu mô tuyến dạ dày.

Summary

Objective: To analyze the relationship between immunohistochemical markers HER2, CD44, ALDH with endoscopic and histopathological characteristics in gastric adenocarcinoma. *Subject and method:* A cross-sectional descriptive study; prospective design on 107 patients with confirmed diagnosis of gastric adenocarcinoma and surgical resection of the tumor at K Hospital. Analysis of the relationship between HER2, CD44, ALDH and parameters. *Result:* Patients with intestinal type had the rate of simultaneous expression of all 3 markers at 14.1%, there was a difference in the concomitant expression of all 3 markers according to Lauren's histopathological characteristics, $p < 0.05$. Patients with mucinous adenomas had the highest rate of concurrent expression of all 3 markers with 16.7%, there was a difference in the simultaneous expression of all 3 markers according to WHO histopathological characteristics, $p < 0.05$. *Conclusion:* Simultaneous expression of HER2, CD44, ALDH is associated with factors such as Lauren's histopathological characteristics, WHO histopathological characteristics in gastric adenocarcinoma patients.

Keywords: Immunomarkers HER2, CD44, ALDH, immunohistochemistry, gastric adenocarcinoma.

Ngày nhận bài: 23/5/2022, ngày chấp nhận đăng: 26/5/2022

Người phản hồi: Nguyễn Khắc Tấn, Email: drtanvptw@gmail.com - Phòng khám ĐK các cơ quan Đảng ở TW

1. Đặt vấn đề

Ung thư dạ dày là một trong các loại ung thư phổ biến nhất và xếp hàng thứ 4 về nguyên nhân gây tử vong trên thế giới. Tỷ lệ mắc ung thư dạ dày vẫn rất cao ở các nước châu Á, trong đó có Việt Nam [1]. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyen TP số ca ung thư ước tính năm 2018 ở Việt Nam là 164.671 (nam giới chiếm 55%), số ca tử vong là 114.871, trong đó nguyên nhân gây tử vong do ung thư dạ dày là 15.065 ca tử vong, chiếm 13,1% [2].

Những năm gần đây các nghiên cứu chỉ ra rằng trong bệnh ung thư, tế bào gốc bình thường sẽ biến đổi thành các tế bào gốc ung thư (Cancer Stem Cell-CSC), chính các CSC này kháng lại các liệu pháp hoá trị và gây ra sự di căn của ung thư đến các cơ quan khác [3]. Đối với ung thư dạ dày, sự tồn tại của CSC trong khối u lần đầu tiên được chỉ ra bởi Takaishi S. dựa vào sự biểu hiện của marker CD44 [4], sau đó Nguyen PH phát hiện thêm ALDH cũng là một marker dùng để xác định CSC dạ dày ở người. Các nghiên cứu cho thấy rằng chính những marker này gây ra sự thải loại thuốc điều trị ung thư biểu mô tuyến dạ dày (UTBMTDD). Từ đó các liệu pháp điều trị nhắm đến đích là các marker UTBMTDD này bằng acid retinoic (AR) đã ức chế mạnh mẽ sự tăng trưởng của tế bào ung thư dạ dày, giúp cải thiện hiệu quả điều trị [5].

Sự biểu hiện của cả HER2, CD44 và ALDH trên bệnh nhân UTBMTDD tại Việt Nam cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu công phu nào được công bố. Ngoài ra xét nghiệm hóa mô miễn dịch hiện nay vẫn rất tốn kém, chưa được thực hiện phổ biến cho bệnh nhân. Do đó cần có thông tin thêm về mối liên quan giữa HER2, CD44 và ALDH với một số xét nghiệm thực hiện phổ biến hơn để gián tiếp tiên lượng kết quả cũng như lựa chọn phương pháp điều trị hợp lý cho bệnh nhân UTBMTDD. Từ thực tiễn đó, nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu: *Phân tích mối liên quan giữa dấu ấn hóa mô miễn dịch HER2, CD44, ALDH với đặc điểm nội soi và mô bệnh học trong ung thư biểu mô tuyến dạ dày.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là 107 bệnh nhân được chẩn đoán xác định UTBMTDD và được phẫu thuật cắt bỏ khối u từ tháng 7/2016 đến tháng 4/2022, tại Bệnh viện K (Cơ sở Tân Triều và Quán Sứ).

Tiêu chuẩn chọn đối tượng: Bệnh nhân được chẩn đoán xác định UTBMTDD dựa trên kết quả mô bệnh học bằng nhuộm Hematoxylin-Eosin (HE) theo tiêu chuẩn ESMO năm 2016, bệnh phẩm là khối u dạ dày sau khi được phẫu thuật [6].

Tiêu chuẩn loại trừ: Ung thư dạ dày di căn từ cơ quan khác, ung thư dạ dày đã được điều trị hoá trị hoặc xạ trị.

2.2. Phương pháp

Phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang; thiết kế tiến cứu.

Nội soi dạ dày sinh thiết: Bệnh nhân được xịt gây tê vùng hầu họng bằng xylocain 2% hoặc lidocain 10%. Đưa máy soi vào dạ dày quan sát kỹ tất cả các vùng của dạ dày, hành tá tràng xuống tận DII tá tràng để tránh bỏ sót tổn thương. Khi phát hiện tổn thương, bơm rửa sạch, sau đó quan sát kỹ bằng chế độ NBI và near focus để đánh giá, sinh thiết tổn thương làm giải phẫu bệnh. Vị trí sinh thiết đối với ổ loét là niêm mạc rìa xung quanh ổ loét, đối với khối u là ở các vị trí khác nhau. Bệnh phẩm lấy ra được cố định vào ống có chứa formol 20% đệm trung tính.

Khi có kết quả giải phẫu bệnh từ bệnh phẩm sau khi nội soi sinh thiết, chẩn đoán là ung thư dạ dày. Bệnh nhân được hội chẩn chuyển sang Khoa Ngoại bụng 1, 2, Bệnh viện K để thực hiện thủ thuật cắt khối u dạ dày. Sau khi phẫu thuật, khối u được bảo quản và đưa đi làm xét nghiệm giải phẫu bệnh tại Bệnh viện K. Sau đó một mẫu bệnh phẩm được gửi sang Pháp để làm hóa mô miễn dịch.

Phương pháp nhuộm và đọc hóa mô miễn dịch:

Xét nghiệm hóa mô miễn dịch được thực hiện bằng tay tại phòng thí nghiệm Inserm U1035 (Đơn vị nghiên cứu *Helicobacter pylori* và ung thư dạ dày), Viện Sức khỏe và Nghiên cứu Y học Quốc gia, Bordeaux, Pháp.

Các kháng thể:

Kháng thể đơn dòng dùng cho phân tích các marker CSC dạ dày gồm: Mouse monoclonal anti-human CD44 (clone G44-26, BD) độ pha loãng 1:100; mouse monoclonal anti-human ALDH1 (clone 44/ALDH, BD) độ pha loãng 1:300.

Hoá chất phân tích hoá mô miễn dịch: Sử dụng bộ kit anti-mouse Labelled Polymer-HRP DAKO Envision system (DAKO); Eukitt-mounting medium (Labonord, Templemars, France).

Các dụng cụ phục vụ cho hoá mô miễn dịch: Máy cắt mô từ mẫu đúc paraffin, hệ thống ổn nhiệt nước, hệ thống khay rửa, lam kính, lam men, hệ thống kính hiển vi ánh sáng trắng.

Kỹ thuật: Quy trình nhuộm HMMD dấu ấn CD44 và ALDH theo phương pháp phức hợp Avidin - Biotin tiêu chuẩn.

Chỉ tiêu nghiên cứu

Đặc điểm nội soi dạ dày:

Vị trí khối u tại dạ dày trên nội soi: Phình vị, thân vị, bờ cong lớn, bờ cong nhỏ, hang vị, môn vị.

Hình thái khối u theo Borrmann: Dạng polyp, dạng nấm, dạng loét, dạng thâm nhiễm.

Kích thước khối u: < 2cm, từ 2 đến < 5cm, ≥ 5cm.

Đặc điểm mô bệnh học:

Phân loại mô bệnh học theo Lauren: Thể ruột, thể lan tỏa.

Phân loại mô bệnh học theo WHO 2010: Thể tuyến nhú, thể tuyến ống, thể tuyến nhày, thể tế bào nhẵn.

Phân loại mức độ biệt hóa theo WHO 2010: Biệt hóa kém, biệt hóa trung bình, biệt hóa tốt.

Đánh giá mức độ biểu hiện của marker HER2, CD44 và ALDH trong mẫu ung thư và mẫu đối chứng theo các mức độ: Âm tính, dương tính.

Phân tích mối liên quan giữa đồng biểu hiện HER2, CD44, ALDH và các thông số.

2.3. Xử lý số liệu

Phần mềm thống kê y học SPSS 22.0. Phân tích các số liệu bằng thuật toán thống kê mô tả tần số các biến Frequencies, Descriptive, Crosstabs.

3. Kết quả

Chúng tôi đã thu thập được 107 bệnh nhân được chẩn đoán xác định là ung thư biểu mô tuyến dạ dày, kết quả nghiên cứu như sau:

Bảng 1. Đặc điểm tuổi, giới

Đặc điểm		Số lượng (n = 107)	Tỷ lệ %
Giới	Nam	72	67,3
	Nữ	35	32,7
Tuổi trung bình	Nam	57,31 ± 10,56	
	Nữ	54,57 ± 11,34	

Nhận xét: Tỷ lệ UTBMTDD ở nam cao hơn so với ở nữ.

Bảng 2. Sự biểu hiện đồng thời của 3 dấu ấn theo vị trí khối u

Vị trí u	Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính				P
		0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	3 dấu ấn	
Thân vị		2 (18,2%)	2 (18,2%)	6 (54,5%)	1 (9,1%)	0,6
Bờ cong lớn		1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	0 (0%)	
Bờ cong nhỏ		5 (14,3%)	10 (28,6%)	13 (37,1%)	7 (20,0%)	
Hang vị		4 (8,5%)	15 (31,9%)	26 (55,3%)	2 (4,3%)	
Môn vị		1 (9,1%)	4 (36,4%)	5 (45,5%)	1 (9,1%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có UTBMTDD ở vị trí bờ cong nhỏ có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn có tỷ lệ cao nhất (20,0%). Không có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời 3 dấu ấn theo vị trí khối u, p>0,05.

Bảng 3. Sự biểu hiện đồng thời của 3 dấu ấn theo hình thái khối u

Hình thái u	Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính				P
		0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	3 dấu ấn	
Thể loét		10 (10,9%)	30 (32,6%)	43 (46,7%)	9 (9,8%)	0,4
Thể thâm nhiễm		3 (20,0%)	2 (13,3%)	8 (53,3%)	2 (13,3%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có u thể thâm nhiễm biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn với tỷ lệ 13,3%, bệnh nhân có u thể loét có tỷ lệ biểu hiện thấp hơn với 9,8%. Không có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời 3 dấu ấn theo hình thái khối u, $p > 0,05$.

Bảng 4. Sự biểu hiện đồng thời của 3 dấu ấn theo kích thước khối u

Kích thước u	Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính				p
		0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	3 dấu ấn	
< 2cm		1 (12,5%)	2 (25,0%)	4 (50,0%)	1 (12,5%)	0,6
2 - < 5cm		9 (13,2%)	24 (35,3%)	30 (44,1%)	5 (7,4%)	
≥ 5cm		3 (9,7%)	6 (19,4%)	17 (54,8%)	5 (16,1%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có u kích thước ≥ 5cm có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn là 16,1%. Bệnh nhân có u kích thước < 2cm có tỷ lệ biểu hiện là 12,5%. Bệnh nhân có u kích thước từ 2 - < 5cm có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn thấp nhất là 7,4%. Không có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời 3 dấu ấn theo kích thước khối u trên nội soi, $p > 0,05$.

Bảng 5. Sự biểu hiện đồng thời của 3 dấu ấn theo MBH Lauren

Lauren	Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính				p
		0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	3 dấu ấn	
Thể ruột		13 (16,7%)	16 (20,5%)	38 (48,7%)	11 (14,1%)	0,001
Thể lan tỏa		0 (0%)	16 (55,2%)	13 (44,8%)	0 (0%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có u thể ruột có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn với 14,1% bệnh nhân có u thể lan tỏa không có bệnh nhân nào biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn. Có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học Lauren, $p < 0,05$.

Bảng 6. Sự biểu hiện đồng thời của 3 dấu ấn theo đặc điểm MBH WHO

WHO	Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính				p
		0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	3 dấu ấn	
Thể tuyến nhú		1 (14,3%)	2 (28,6%)	3 (42,9%)	1 (14,3%)	0,03
Thể tuyến ống		10 (16,7%)	12 (20,0%)	30 (50,0%)	8 (13,3%)	
Thể tuyến nhày		2 (16,7%)	2 (16,7%)	6 (50,0%)	2 (16,7%)	
Thể tế bào nhẵn		0 (0%)	16 (57,1%)	12 (42,9%)	0 (0%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có u thể tuyến nhày có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn cao nhất với 16,7%. Có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học WHO, $p < 0,05$.

Bảng 7. Sự biểu hiện đồng thời của 3 dấu ấn theo độ biệt hóa

Biệt hóa	Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính				p
		0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	3 dấu ấn	
Biệt hóa kém		9 (13,6%)	24 (36,4%)	28 (42,4%)	5 (7,6%)	0,4
Biệt hóa trung bình		4 (10,5%)	7 (18,4%)	21 (55,3%)	6 (15,8%)	
Biệt hóa tốt		0 (0%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0 (0%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có u biệt hóa trung bình có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn cao nhất với 15,8%. Không có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo độ biệt hóa, $p > 0,05$.

4. Bàn luận

Các dấu ấn đặc biệt của tế bào ung thư dùng để phát hiện, cô lập và nhắm mục tiêu điều trị vào các CSC của khối u. Nghiên cứu của Nguyen PH cho thấy rằng một quần thể nhỏ các tế bào ung thư biểu mô dạ dày biểu hiện EPCAM, CD133, CD166, CD44 và ALDH thể hiện các đặc tính để tạo ra các khối u không đồng nhất mới trong ống nghiệm và các khối u in vivo. Kết quả cho thấy CD44 và CD166 cùng biểu hiện, chiếm 6,1% đến 37,5%; ALDH dương tính được phát hiện trong 1,6% đến 15,4% tế bào và các tế bào ALDH+ đại diện cho một lõi trong quần thể con CD44+/CD166+ có tần số cao nhất của CSC gây khối u in vivo. Các tế bào ALDH+ có khả năng chống lại hóa trị liệu tiêu chuẩn hơn các tế bào ALDH-, một quá trình đã bị đảo ngược một phần khi điều trị bằng verapamil. CD44 và ALDH là các dấu ấn sinh học cụ thể nhất để phát hiện và phân lập các CSC dạ dày gây khối u và kháng hóa chất trong các ung thư biểu mô dạ dày không phát triển độc lập với phân loại mô học của khối u [7].

Ở bệnh nhân ung thư dạ dày, ý nghĩa của sự biểu hiện đồng thời các dấu ấn ALDH+, CD44+ / CD166+ đã được đề xuất là kiểu hình có nhiều khối u nhất trong số các tế bào có nguồn gốc từ khối u dạ dày nguyên phát. Đáng chú ý, các tế bào có hoạt tính ALDH cao được phân lập từ các dòng tế bào ung thư dạ dày có khả năng kháng 5-FU và doxorubicin [8].

Cho đến nay hầu như chưa có nghiên cứu về sự biểu hiện đồng thời của cả HER2, CD44, ALDH trên bệnh nhân UTBMTDD, vì vậy mối liên quan giữa sự biểu hiện đồng thời của các dấu ấn này với đặc điểm nội soi và mô bệnh học là chưa có thông tin. Chúng tôi sau khi tiến hành xét nghiệm đồng thời 3 dấu ấn HER2, CD44, ALDH và phân tích mối liên quan thì thấy có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn liên quan đến đặc điểm mô bệnh học Lauren với tỷ lệ biểu hiện ở thể ruột là 14,1%, $p < 0,05$ (Bảng 5). Bệnh nhân có u thể tuyến nhày có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn cao nhất với 16,7%, có sự

khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học WHO, $p < 0,05$ (Bảng 6). Như vậy, sự biểu hiện đồng thời HER2, CD44 và ALDH có sự khác biệt theo đặc điểm mô bệnh học Lauren, đặc điểm mô bệnh học WHO.

Tế bào gốc ung thư có những đặc điểm riêng biệt của chúng, là yếu tố quyết định đến sự thất bại của liệu pháp điều trị. CSC thể hiện khả năng tự đổi mới không giới hạn và có thể sản sinh ra các tế bào khối u không đồng nhất. Do đó, quần thể tế bào này duy trì sự tồn tại liên tục các khối u và nguồn gốc tạo ra sự không đồng nhất của khối u. CSC tạo ra các cơ chế đa dạng khiến chúng trở nên khó nhận biết đối với các liệu pháp thông thường, chủ yếu hướng đến việc chống lại các tế bào đang trong quá trình tăng sinh. Cùng với đó, trạng thái im lặng của chúng làm cho các loại thuốc chống phân bào mất tác dụng. Hơn nữa, CSC có khả năng thải ra rất nhiều chất và thuốc nhờ sự biểu hiện cao của các chất vận chuyển qua màng. Thực trạng này hạn chế lợi ích của các tác nhân hóa trị liệu vì không đạt được nồng độ điều trị trong các tế bào này. Hơn nữa, CSC phát triển các cơ chế khác nhau để giảm thiểu thiệt hại do thuốc gây ra. Về vấn đề này, CSC có hoạt động sửa chữa DNA được nâng cao và có thể giảm thiểu hiệu quả các aldehyde và ROS. Ngoài ra, CSC tồn tại sau khi bị thương do các cơ chế phân tử cho phép chúng tránh được sự cảm ứng của quá trình apoptosis. Do đó, nhu cầu cấp thiết là xác định các tác nhân có hiệu quả chống lại CSC. Nếu các liệu pháp loại bỏ các tế bào khối u đã biệt hóa phù hợp với khối u, nhưng không thể loại bỏ các CSC do khả năng kháng thuốc của chúng, sẽ dẫn đến hiện tượng tái phát và lan rộng của khối u và cuối cùng dẫn đến tử vong của bệnh nhân. Các chất điều chỉnh CSC gồm LGR5, CD44, CD133, HMMR, E2F1 và ALDH có liên quan đến kháng trị liệu và tiên lượng xấu ở bệnh nhân ung thư dạ dày [8].

5. Kết luận

Sau nghiên cứu chúng tôi có một số kết luận như sau:

Bệnh nhân có u thể ruột có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn là 14,1% bệnh nhân có u thể lan tỏa không có bệnh nhân nào biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn. Có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học Lauren, $p < 0,05$.

Bệnh nhân có u thể tuyến nhày có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn cao nhất với 16,7%. Có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học WHO, $p < 0,05$.

Tài liệu tham khảo

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL et al (2021) *Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. CA Cancer J Clin 71(3): 209-249.
2. Nguyen TP, Luu HN, Nguyen MVT et al (2020) *Attributable causes of cancer in Vietnam*. JCO Glob Oncol 6: 195-204.
3. Eldeen MA, Hashim A, Eid RA et al (2021) *Molecular targeting of breast cancer stem cells: A promising strategy for management and eradication*. European Journal of Molecular & Clinical Medicine 8(1): 1756-1768.
4. Takaishi S, Okumura T, Tu S et al (2009) *Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44*. Stem Cells 27(5): 1006-1020.
5. Nguyen PH, Giraud J, Staedel C et al (2016) *All-trans retinoic acid targets gastric cancer stem cells and inhibits patient-derived gastric carcinoma tumor growth*. Oncogene 35(43): 5619-5628.
6. Smyth EC, Verheij M, Allum W et al (2016) *Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol 27(5): 38-49.
7. Nguyen PH, Giraud J, Chambonnier L et al (2017) *Characterization of biomarkers of tumorigenic and chemoresistant cancer stem cells in human gastric carcinoma*. Clin Cancer Res 23(6): 1586-1597.
8. Otaegi-Ugartemendia M, Matheu A, Carrasco-Garcia E (2022) *Impact of cancer stem cells on therapy resistance in gastric cancer*. Cancers (Basel) 14(6):1457.