

肿瘤干细胞特性研究进展

冯海凉综述,刘玉琴审校

关键词:肿瘤;肿瘤干细胞;肿瘤治疗

中图分类号:R730 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2008)03-0215-03

0 引言

早在 1855 年,Rudolph Virchow 就已经注意到肿瘤形成和组织发育之间的关联性,并根据发育中的胚胎和畸胎瘤形态学上的相似性提出了肿瘤发生的“残留胚胎组织”学说^[1]——认为肿瘤来源于成体组织中残留的休眠胚胎组织的激活。随着研究的深入,人们发现干细胞和肿瘤细胞之间存在着很多相似之处^[2]:他们都有无限增殖的能力,可以自我更新;都具有特异性分化的能力,可以产生表型和生物学特性不同的子代细胞;有一些相同的信号传导通路,如 Wnt、PTEN、Notch、Hedgehog 及 BMI1 信号通路;肿瘤细胞的侵袭和转移与干细胞归巢的相关性等等——在这些基础上,人们提出了肿瘤干细胞学说(cancer stem cell, CSC),认为肿瘤组织中存在一小部分细胞具有干细胞性,具有自我更新和无限增殖的能力,负责分裂生成其他大部分细胞形成肿瘤肿块;肿瘤干细胞处于休眠或者低增殖状态,对化疗药物敏感性低,是肿瘤转移复发的根源。此学说比较好地解释了肿瘤的形成、发展、转移、复发等各方面的生物学行为,所以得到了越来越多学者的认同。鉴于大量的实验证据,现在研究已经走过了争论肿瘤干细胞存在与否的阶段,而是正在各个组织中分离肿瘤干细胞鉴定其特性并进一步探索它们在临床上的治疗价值。到目前为止,除了在粒细胞白血病^[3-8]、乳腺癌^[9-12]和脑肿瘤^[13-16]中鉴定了肿瘤干细胞的存在,科学家们已经相继在肺癌^[17]、恶性黑色素瘤^[18]、前列腺癌^[19]、卵巢肿瘤^[20]和结肠癌^[21]中得到了肿瘤干细胞的证据。

1 肿瘤干细胞的特性

1.1 白血病干细胞特性

造血系统的白血病干细胞(leukemia stem cells,

LSCs)是肿瘤干细胞领域研究最早也相对最为透彻的,最为经典的分子标记是 CD34⁺ CD38⁻。以后的研究中不断加入其他的一些标记进一步区别 LSCs 和造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)。最早 Bonnet^[3]认为急性髓系白血病(AML)肿瘤细胞中 CD34⁺ CD38⁻的细胞是干细胞,把这些细胞移植到 NOD\ SCID(非肥胖型糖尿病\重症联合免疫缺陷小鼠)可以形成 AML。后来 Blair 等^[4]又进一步证明了 CD34⁺ CD38⁻ Thy-1⁻的细胞能够在体外扩增,在鼠体内广泛繁殖。Jordan^[5]的研究显示 CD34⁺ CD38⁻细胞中,CD123 的表达率达到 98%,而正常骨髓的 CD34⁺ CD38⁻细胞中是检测不到 CD123⁺细胞的。CD34⁺ CD123⁺细胞也可在 NOD\ SCID 体内形成并维持白血病的特性。Guzman^[6]进一步将白血病干细胞的免疫表型归纳为 CD34⁺ CD38⁻ CD71⁻ HLA-DR⁻ CD90⁻ CD117⁻ CD123⁺,其中后 3 个抗原只表达在白血病干细胞而不表达在造血干细胞。Hauswirth^[7]以 CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ CD33⁺细胞作为白血病干细胞,由于 CD33 在正常骨髓细胞中不表达,所以抗 CD33 的药物已成功应用在临床治疗 AML。其他利用造血系统肿瘤干细胞进行的研究还表明^[8]:血液系统肿瘤干细胞多处于 G₀G₁期,具有 RNA 含量低,高表达多耐药蛋白(P-glycoprotein, P-gp)等特点。

1.2 乳腺癌干细胞特性

乳腺癌中以 CD44⁺ CD24^{-/low}细胞为乳腺癌干细胞(breast cancer initiating cells, BRCa-IC)。Clarke^[9]首次从人类乳腺癌标本中分离出了 BRCa-IC,他们把表达 CD44、B 38.1 和 ESA 的乳腺癌细胞移植到 NOD\ SCID 小鼠体内可以生成肿瘤。Al-Hajj^[10]以 Lin⁻ ESA⁺ CD44⁺ CD24^{-/low}为特异性乳腺癌干细胞。他们证明了 Lin⁻ ESA⁺ CD44⁺ CD24^{-/low}的细胞较 Lin⁻ ESA⁻ CD44⁺ CD24⁺的细胞在 NOD\ SCID 体内具有更强的成瘤能力。Ponti^[11]等把乳腺癌组织和乳腺癌的细胞系中分离出的 CD44⁺ CD24⁻ Cx43⁻进行了体外培养,这些细胞呈球状生长,并过表达血管生成因子、细胞保护因子及公认的干细胞标志物 Oct-4。但是 Abraham^[12]用免疫双染检测了 136 个病人石蜡组

收稿日期:2007-04-09;修回日期:2007-05-17

基金项目:国家重点基础研究发展规划(973)资助项目(2002CB51300)

作者单位:100005 北京,中国医学科学院基础医学研究所 中国协和医科大学基础医学院

作者简介:冯海凉(1983-),女,硕士在读,主要从事实验肿瘤学研究

织切片,发现 CD44⁺ CD24^{-/low} 的比例和临床结果无关,CD44⁺ CD24^{-/low} 比例高的乳腺癌更倾向于骨转移,提示对 BRCa-IC 的标志尚需进一步细化,还要考虑肿瘤实际体内情况。

1.3 脑肿瘤干细胞特性

细胞表面表达 CD133 目前认为是脑肿瘤干细胞 (brain tumor stem cell BTSC) 的特性。这些细胞可以形成克隆。Singh SK 等^[13] 用无血清培养基培养,仅有部分细胞可以形成克隆性神经球样集落 (neurosphere like colonies), 即肿瘤球 (tumor sphere)。把这些表达 CD133 和神经巢蛋白 (Nestin) 的肿瘤细胞用 10% FBS 培养后发现原本悬浮生长改为贴壁生长,并表达一些与分化有关的标志物。仅 100 个 CD133⁺ 接种于 NOD-SCID 小鼠就可以形成肿瘤,且肿瘤细胞的表面标志和分化程度与原发肿瘤相似;而接种 (5~10) × 10⁴ 个 CD133⁻ 的细胞只是在注射部位形成了一条胶质瘢痕。Hemmati^[14] 等在小儿脑部肿瘤的研究中也得出了相似的结果。Bao^[15] 发现脑胶质瘤干细胞 DNA 修复能力增强,可以较快地修复放射治疗造成的 DNA 损伤,从而存活下来并最终造成肿瘤的复发。而 Piccirillo^[16] 则证明了胶质瘤干细胞经诱导后可以向成熟细胞分化,成瘤的能力降低。

1.4 其他肿瘤干细胞特性

除了血液系统,乳腺癌,脑肿瘤,其他肿瘤干细胞的报导也相继出现。Scal-1⁺ CD45⁻ Pecam⁻ CD34⁺ 的支气管肺泡干细胞 (bronchoalveolar stem cells BASCs) 存在于气管肺泡导管连接处, Kim 等^[17] 认为 BASCs 可能是肺腺癌的起源细胞。恶性黑色素瘤组织及恶性黑色素瘤细胞系中 CD20⁺ 的细胞具有自我更新能力,细胞呈球形生长,具有神经嵴干细胞的可塑性,并较其他细胞有较强的致瘤性。故 Fang^[18] 等认为 CD20⁺ 细胞是恶性黑色素瘤肿瘤干细胞。Collins^[19] 发现 CD44⁺ / 2 1^{hi} / CD133⁺ 的前列腺癌细胞大约只占总细胞数的 0.1%, 并且这部分细胞在体外有明显的自我更新和更强的增殖能力,从而认为 CD44⁺ / 2 1^{hi} / CD133⁺ 亦是前列腺癌干细胞的特异标记。O'Brien^[20] 用肾被膜移植实验证明了结肠癌起始细胞 (colon cancer-initiating cells, CC-IC) CD133 阳性。有限稀释实验证明每 5.7 × 10⁴ 个细胞里存在一个 CC-IC, 而每 262 个 CD133⁺ 的结肠癌细胞中就存在一个 CC-IC。Szotek^[21] 认为卵巢癌组织及细胞系中干细胞包含在可以排除 Hoechst33324 的 SP (side population, SP) 细胞中。这些细胞表达乳腺癌抗蛋白-1 并对维拉帕米敏感。接种相同数量的 SP 和非 SP 细胞,前者形成肿瘤要早于后者,而亲脂性化疗药

多柔比星 (Doxorubicin) 也是更多作用于非 SP 细胞,而对 SP 细胞无效。

2 肿瘤干细胞研究潜在的临床应用价值

目前对肿瘤干细胞特性的研究还处于积累阶段。目前直接针对其的治疗方案在临床上应用很少。结合理论上推测和实际应用两方面考虑,肿瘤干细胞的临床应用主要可以分为下面三个方面:

(1) 通过肿瘤干细胞表面的分子抗原进行靶向杀伤。现已应用于临床的吉姆单抗 (gemtuzumab) / 奥佐米星 (ozogamicin) 是人源化的抗 CD33 单抗和细胞毒抗肿瘤抗生素刺孢霉素 (calicheamicin) 的偶联物,用于治疗复发的 AML。最近的发现抗 CD44 的单抗可以消除 AML 干细胞^[22]。从这个意义上说,如果能得到肿瘤干细胞表面特异的分子标记进一步获得它的抗体与细胞毒药物偶联进而杀伤肿瘤干细胞,将给肿瘤治疗带来曙光。

(2) 利用肿瘤特异的癌蛋白进行诱导分化。在低分化的肿瘤细胞中和肿瘤干细胞中存在一些特异的癌蛋白如 HER-2/ neu、突变的 ras、突变的 Kit、BCR/ ABL 和 PML/ RAR 等^[23], 与肿瘤细胞的成熟阻滞相关。针对它们进行靶向治疗可以诱导肿瘤细胞分化成熟,然后象正常细胞一样凋亡。全反式维甲酸 (RA) 治疗 AML 和伊马替尼 (Imatinib) 治疗费城染色体 (Bcr-Abl) 阳性的慢性骨髓性白血病 (CML) 是诱导分化治疗肿瘤中两个成功的例子^[23]。

(3) 干预下游的信号传导通路。参与正常干细胞调控的基因如 Wnt、Notch、BMI1 等在肿瘤干细胞中同样发挥重要作用。不同的肿瘤组织中都有较为特异的信号分子活化,可以通过小分子抑制剂如 RNAi 技术阻止这些信号通路的活化来治疗肿瘤。

但同时也有学者认为仍应以增殖的肿瘤细胞为治疗重点,而不是肿瘤干细胞。因为肿瘤治疗失败引起复发是因为没有完全消除增殖的肿瘤细胞,而不是因为仅采用了针对增殖细胞的措施^[24]。总之,把肿瘤干细胞应用于临床还有很长的路要走。

3 肿瘤干细胞研究的展望

虽然目前大家已经对肿瘤组织中确有肿瘤干细胞的存在基本达成了一致,并对其在肿瘤临床治疗中的应用前景充满信心,但是由于受到干细胞研究进展的限制,肿瘤干细胞仍然处于举步维艰的初步阶段。各学者们所持态度也有所不同^[25]。报道了正常干细胞和肿瘤干细胞的第一个重要区别的生物学家 Ann Arbor 说:“还记不记得凋亡? 还记不记得血管生成?”这些曾经让人们看到治愈肿瘤的曙光

但最终仍也只限于少量的临床应用,他认为肿瘤干细胞也只是肿瘤研究中的一个阶段性概念。而 Michael Clarke 认为“肿瘤干细胞最终一定会被证明是肿瘤的恶性根源——这只是一个时间问题。”更为谨慎的是持怀疑态度的 William Hahn:“现在还不能确定是哪个分子决定了肿瘤细胞的干细胞性。”但不管它的治疗意义有多大,肿瘤干细胞这一概念的提出为肿瘤生物学家提供了一个新的视角。

现在的问题主要集中在:(1)肿瘤干细胞的鉴定、分选及培养:这是整个肿瘤干细胞领域的研究基础,主要是探索肿瘤干细胞从肿瘤组织分离及体外培养扩增建系的方法,建立体外模型,为肿瘤干细胞的研究做好铺垫;(2)肿瘤干细胞的来源:是否来源于正常干细胞或者定向祖细胞尚无定论;(3)肿瘤干细胞和正常干细胞的区别:科学家正集中寻找两者之间在基因表达谱和细胞表面分子上的区别,为临床治疗靶向肿瘤干细胞做出铺垫;(4)肿瘤干细胞和周围环境的信息传递:正常干细胞的增殖和分化受其生长的特异环境——小龛(niche)中各种调控生长的信号分子的调控。肿瘤干细胞是否存在类似于正常干细胞的小龛或者是否因为微环境中促生长的信号占优势而促进了肿瘤干细胞的生成?

总的来说,虽然关于肿瘤干细胞的来源和发挥功能的途径还没有定性的结论,但是大家都意识到了针对肿瘤干细胞的治疗将是一个应用很广的领域,探索性的文章也层出不穷,也许在不久的将来我们就会因为肿瘤干细胞而对肿瘤的发生发展及治疗有一个全新的认识。

参考文献:

[1] Virchow R. Cellular-pathologie[J]. Arch Pathol Anat Physio Klin Med, 1855, 8(3): 3-39.
 [2] Köpper L, Hajdu M. Tumor Stem Cells[J]. Pathology Oncology Research, 2004, 10(2): 69-73.
 [3] Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell[J]. Nature Med, 1997, 3(7): 730-737.
 [4] Blair A, Hogge DE, Ailles LE, et al. Lack of expression of Thy-1(CD90) on acute myeloid leukemia cells with long-term proliferative ability in vitro and in vivo[J]. Blood, 1997, 89(9): 3104-3112.
 [5] Jordan CT, Upchurch D, Szilvassy SJ, et al. The interleukin-3 receptor alpha chain is a unique marker for human acute myelogenous leukemia stem cells[J]. Leukemia, 2000, 14(10): 1777-1784.
 [6] Guzman ML, Jordan CT. Considerations for targeting malignant stem cells in leukemia[J]. Cancer Control, 2004, 11(2): 97-104.

[7] Hauswirth AW, Florian S, Printz D, et al. Expression of the target receptor CD33 in CD34/CD38/CD123 AML stem cells[J]. Eur J Clin Invest, 2007, 37(1): 73-82.
 [8] 任乐荣,刘玉琴. 血液系统肿瘤细胞系中 CD34 + 干细胞特性研究[J]. 解剖学报, 2005, 36(4): 367-371.
 [9] Clarke MF, Morrison SJ, Wicha MS, et al. Isolation and use of solid tumor stem cells[P]. United States Patent Application, 2002, 200220119565.
 [10] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(7): 3983-3988.
 [11] Ponti D, Casta A, Zaffaroni N, et al. In vitro propagation of breast tumorigenic cancer cells with stem/properties[J]. Cancer Res, 2005, 65(13): 5506-5511.
 [12] Abraham BK, Fritz P, McClellan M, et al. Prevalence of cells in breast cancer may not be associated with clinical outcome but may favour distant metastasis[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(3): 1154-1159.
 [13] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumor-initiating cells[J]. Nature, 2004, 432(7015): 396-401.
 [14] Hemmati HD, Nakano I, Lazareff JA, et al. Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(25): 15178-15183.
 [15] Bao S, Wu Q, Sathornsumetee S, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response[J]. Nature, 2006, 444(7120): 756-760.
 [16] Piccirillo S, Reynolds BA, Zanetti N, et al. Bone morphogenetic proteins inhibit the tumorigenic potential of human brain tumor-initiating cells[J]. Nature, 2006, 444(7120): 761-765.
 [17] Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer[J]. Cell, 2005, 121(6): 823-835.
 [18] Fang D, Nguyen TK, Leishear K, et al. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas[J]. Cancer Res, 2005, 65(20): 9328-9337.
 [19] Collins AT, Berry PA, Hyde C, et al. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells[J]. Cancer Res, 2005, 65(20): 10946-10951.
 [20] O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumor growth in immunodeficient mice[J]. Nature, 2007, 445(7123): 106-110.
 [21] Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT, et al. Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian inhibiting substance responsiveness[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(30): 11154-11159.
 [22] Jin L, Hope KJ, Zhai Q, et al. Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells[J]. Nature medicine, 2006, 12(10): 1167-1173.
 [23] Sell S. Cancer stem cells and differentiation therapy[J]. Tumor Biol, 2006, 27(2): 59-70.
 [24] Blagosklonny MV. Target for cancer therapy: proliferating cells or stem cells[J]. Leukemia, 2006, 20(3): 385-391.
 [25] Abbott A. The root of the problem[J]. Nature, 2006, 442(7104): 742-743.

[编辑:安 凤;校对:周永红]