

# 实体瘤中肿瘤干细胞研究进展

宋尔卫

(中山大学附属第二医院乳腺外科, 广东 广州 510120)

**作者简介:** 宋尔卫, 教授, 1970年出生, “973”首席科学家, 教育部长江学者特聘教授, 国家杰出青年基金获得者, 中山大学附属第二医院外科教授, 博士生导师, 中山大学孙逸仙医院副院长。2000年在中山大学获医学博士学位, 然后在德国埃森大学医学院与哈佛医学院从事博士后研究3年, 并获聘哈佛医学院讲师1年, 2004年回国受中山大学聘为研究员, 主要研究方向: 表观遗传机制与肿瘤发病和治疗应用研究。2005年获得国家杰出青年基金, 2006年获教育部新世纪人才计划资助, 2007年被聘为教育部长江学者特聘教授, 2009年被聘为“973”首席科学家, 2009年获得美国中华医学基金会(CMB)杰出教授奖, 2010年获得第十一届中国青年科技奖。其重要研究成果在国际顶级学术期刊《Cell》上发表论著, 并被评为“2008年度中国高校十大科技进展”。曾获得“863”计划、“973”计划、“A3”计划、国家自然科学基金、新世纪优秀人才计划项目等资助。获得发明专利9项。主编《RNA干扰的生物学原理与应用》和《小分子RNA的基础研究与临床应用》, 参编《Gene Silencing by RNA interference》, 担任《J RNAi&gene silencing》杂志编委。在《Cell》, 《Nature Medicine》, 《Nature Biotechnology》, 《Clinical Cancer Research》等杂志发表SCI论著33篇, 总影响因子187分, SCI他引超过2000次。E-mail: Songerwei02@yahoo.com.cn。



宋尔卫

**摘要:** 自肿瘤干细胞(CSC)学说提出以来, 受到了科学界的广泛关注, 也是争论的焦点问题。正确认识肿瘤干细胞的生物学特性和调控机制, 寻找治愈肿瘤的新途径新方法, 是目前最重要研究方向之一。本文就实体瘤中CSC的起源、分离鉴定方法, 以及信号通路、微环境, 小分子RNA与CSC的作用和肿瘤的靶向治疗等方面展开论述。

**关键词:** 肿瘤干细胞; 实体瘤; 研究进展

中图分类号: R73

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2010)02-0172-07

## Research Progress of Solid Tumor Stem Cells

SONG Er-wei

(Department of Breast Surgery, The Second Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

**Abstract:** The investigation and study of cancer stem cells (CSC) have received enormous attention since the theory has been proposed, but remain topics of considerable controversy. A correct understanding of the biological characteristics of cancer stem cells and relevant mechanisms, to find new ways and methods to cure cancer are currently the most important direction. In the following text, we discuss the origin, the identification, regulatory pathway, micro-environment, the role of miRNA in the CSC and the new potential therapeutic targets elucidated by considering cancer as a problem in stem cell biology.

**Key words:** cancer stem cell; solid tumor; research progress

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2010, 31(2): 172-178]

收稿日期: 2010-02-01

基金项目: 国家自然科学基金(30772550); 国家自然科学基金重点项目(30830110); 国家自然科学基金基金国际(地区)合作交流项目(30921140312)

肿瘤生物学的研究中最具吸引力的理论之一是肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSC)假说,该理论认为肿瘤是由一群功能异质性的细胞组成,只有一小部分具有干细胞特性的癌细胞才具有自我更新和分化成不同肿瘤细胞能力,在维持肿瘤的恶性增殖、侵袭、转移和复发等方面中起着决定性作用<sup>[1-2]</sup>。由此为针对一小群 CSC 特异靶向治疗肿瘤提供了理论依据,为解决肿瘤的治疗顽固性提供了新视角。尽管 CSC 理论应用于临床还有很多基本问题需要解决,但初步的研究表明通过特异地靶向 CSC 来治愈肿瘤前景远大。实体瘤是当前癌症治疗中最具挑战的一类肿瘤,占据癌症约 80%,源自上皮组织的实体瘤包括乳腺癌、肺癌、结肠癌、前列腺癌和卵巢癌等,通过组织显微学和特异表达标志物以及基因表达谱可以用于临床区分这些实体瘤的亚型。但大部分的实体瘤的细胞起源以及肿瘤转移和休眠复发的复杂病理过程还不甚清楚,可以推测的是不同的实体瘤亚型反映了不同细胞起源。另外遗传和表观遗传突变的积累和肿瘤细胞与肿瘤微环境的相互作用都深刻地影响到肿瘤发展过程。

## 1 肿瘤干细胞与两个模型

当前许多研究表明肿瘤组织中也存在着与正常组织中干细胞特性相似的一些肿瘤细胞亚群,肿瘤干细胞的概念进而被提出来,区别于其他肿瘤细胞,CSC 具有很强的自我更新和分化能力,在体内迁移可以形成新的转移灶,对化疗药物和放疗不敏感,是肿瘤恶性之源。

由此自然引出一个关键问题就是 CSC 到底起源于何种细胞。目前对 CSC 的起源问题仍存在争议,大致有以下三种 CSC 起源假说:①CSC 源自正常成体干细胞(normal stem cells, NSC)发生突变,多种因素引起 NSC 正常的更新分化调控机制过度激活而转化为恶性的 CSC;②祖细胞在分化过程中发生突变获得自我更新能力终止分化,转化为 CSC;③成熟终末分化细胞因为突变获得自我更新和分化能力,转而形成 CSC<sup>[3]</sup>。支持 CSC 起源于 NSC 的证据最多,CSC 与 NSC 有许多相似的特性并共享许多信号通路,是如此接近,若 NSC 长期处于致癌微环境下,DNA 损伤修复无法有效完成,关键基因的异常激活或失活及信号通路的失调控,

极有可能导致 NSC 转化为 CSC。Bonnet 和 Blair 等<sup>[4-5]</sup>研究表明表型为 CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> Thy-1<sup>+</sup> c-Kit<sup>+</sup> IL-3R $\alpha$ <sup>-</sup> 的初始造血干细胞的 Thy-1 (CD90) 丢失导致其恶性转化为 CSC,白血病干细胞可能是由造血干细胞衍生而来。定向分化的祖细胞同样可以转化为 CSC。有研究表明,寡树突间质祖细胞(oligodendroglial progenitors)受胞外信号诱导后可以获得干细胞样特性,引起染色质重组和 SOX2 的重新激活<sup>[6]</sup>。2006 年日本科学家 Yamanaka 向终末分化的小鼠成纤维细胞中导入 sox2、c-myc、klf4 和 oct4 四个转录因子使成纤维细胞重新编程获得胚胎干细胞样细胞——IPS(诱导多潜能干细胞),表明通过实验的途径就可以使终末分化的细胞重新获得永生<sup>[7]</sup>。由此提示 CSC 也有可能源自终末分化成体细胞,一些研究表明在啮齿动物的星型胶质细胞中过表达 PDGF 基因(PDGF 可维持星型胶质前体细胞处于非分化状态),或过表达 c-myc 都能引起胶质瘤的形成。另有证据表明在成熟神经胶质细胞中敲低细胞周期调控基因 InK-4a-Arf,同时下调 EGF 受体,也可导致胶质瘤的产生<sup>[8]</sup>。

肿瘤在演变的过程中,逐渐失去单克隆特性,获得异质性的遗传特征从而产生有不同恶性行为的肿瘤细胞,即肿瘤的功能异质性,不同的细胞亚群增殖、分化能力都不一样。关于肿瘤异质性目前至少有两种模型来解释:肿瘤干细胞模型和克隆进化模型。肿瘤干细胞模型认为肿瘤干细胞位于肿瘤细胞分层等级体系的顶端,强调与正常组织干细胞相似特性,包括通过均质或非均质的分裂实现自我更新和可分化成其它细胞的能力,不过 CSC 的这些干细胞样特性是脱离正常轨道的恶性表现<sup>[9]</sup>。克隆进化模型认为肿瘤细胞在随机突变中仅具有那些获得生长优势的突变肿瘤细胞能在进化过程中被选择和扩大,这些取得支配权的肿瘤细胞亚群具备肿瘤再生的潜能<sup>[10]</sup>。两种模型并不互相排斥,都可能存在于癌症发生过程中,如同白血病干细胞表现一样,CSC 可以进行克隆进化产生许多遗传背景不一的肿瘤干细胞。另一方面,当突变赋予了肿瘤细胞更强侵袭和增殖能力时,新的 CSC 就会产生。体外系列移植筛选实验结果表明能产生恶性增殖力更强的肿瘤。CSC 并不一定都是正常干细胞转化而来,祖细胞或分化成熟细胞只要累积突变获得了自我更新能力也可成为

CSC。有研究表明,粒巨祖细胞中 MLL-AF9 激活获得自我更新能力后可以转化为白血病干细胞<sup>[11]</sup>。

## 2 肿瘤干细胞的生物学特性及分选鉴定

肿瘤干细胞与正常干细胞(NCS)有许多相似的特点,CSC 也能通过自我更新和分化能力产生新的 CSC 和各种肿瘤细胞来维持肿瘤的生存和发展。但肿瘤干细胞是失调的恶性细胞,相比正常干细胞有其独有特点:①致瘤性,极少数的 CSC 就可导致肿瘤的发生,而一般的肿瘤细胞很难形成克隆或体内成瘤<sup>[12]</sup>。②异质性,同一肿瘤中各种肿瘤细胞表现出显著的功能异质性,研究表明 CSC 间也有如是现象。在缺失 BRCA1 的小鼠模型中,细胞亚群 CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-</sup>细胞和 CD133<sup>+</sup>细胞都能表现为相似的致瘤能力<sup>[13]</sup>。③耐药性,CSC 细胞膜上大多表达 ATP-cassette(ABC)家族膜转运蛋白,这类蛋白能将细胞毒素和抗肿瘤药物泵出细胞外,对多种化疗药物产生耐药性;同时 CSC 大多处于细胞周期的 G0 期,通过休眠状态来逃避化疗药物的攻击;CSC 的 DNA 修复机制的强激活提高细胞内的氧自由基清除能力来增加 DNA 的修复能力从而引起治疗的失败<sup>[14]</sup>。④转移性,在肿瘤组织中并不是所有的细胞都具有侵袭与转移能力,而 EMT(epithelial-mesenchymal transition)通常与 CSC 存在密切联系,CSC 迁移前可能经历了 EMT 过程<sup>[15]</sup>。Hermann 等<sup>[16]</sup>发现,胰腺癌细胞中有一类特殊的亚群 CD133<sup>+</sup>CXCR4<sup>+</sup>,除了具有 CSC 的特征外,还经常定位于肿瘤侵袭的边缘,CXCR4 是一种趋化因子受体,体内 CD133<sup>+</sup>CXCR4<sup>+</sup>亚群细胞可以转移到肝脏中,利用化学药物抑制其作用后,转移能力明显下降。⑤CSC 比率变化大,CSC 细胞既然有干细胞样特性,处于肿瘤细胞组织的顶端,在数量上应该维持在相对稳定的极少数。但实体瘤的结果表明 CSC 在同类型肿瘤中的比率变化差异相当大,可以在 1%~20%范围内变动。黑色素瘤中 ABCB5<sup>+</sup>型 CSC 的比率在 1.6%~20%之间,结肠癌中 CSC 比率为 1.8%~24.5%<sup>[17-18]</sup>。

从肿瘤组织中分选和鉴定出 CSC 对研究肿瘤形成生物学机制及临床预防、诊断和治疗至关重要。目前主要从 CSC 生物学功能特点和其表面特异标志物两大方面来对 CSC 进行鉴定和筛选,联

合使用多种方法也是切实有效的方法。①CSC 筛选最常用的手段是利用 CSC 细胞表面特异标志物,通过流式细胞术或磁珠分选法分离得到 CSC。CD133 和 CD44 可用来分离实体瘤中的肿瘤干细胞,但目前还没有发现哪一种标志物特异地在 CSC 中表达,因此确定更多的 CSC 表面标志物及组合使用这些标志物将有助于提高 CSC 筛选的正确率。②根据肿瘤细胞中一群称为 SP 细胞(side population cell)能将核酸染料 Hoechst33342 排出胞外的特性,通过流式细胞术来分选,虽然一些 SP 细胞也具备自我更新和分化能力<sup>[19]</sup>,但究竟是不是 CSC 还需进一步研究。③根据 CSC 的克隆形成能力来筛选,将肿瘤细胞放在软琼脂培养基上培养,CSC 在无血清添加生长因子条件仍具有很强的自我更新和保持非分化状态的能力,进而能形成克隆,而其他肿瘤细胞则在传代过程中消亡<sup>[20]</sup>。④鉴定 CSC 细胞的金标准是看分选得到的 CSC 能否在移植动物体内形成新肿瘤。将分离出来的各细胞亚群按不同细胞浓度梯度接种 NOD/SCID 小鼠比较各细胞群成瘤能力<sup>[21]</sup>,从而筛选出优势细胞表面标志,或者将几种优势细胞表面标志进行组合,筛出各种组合的细胞群,这一方法又称系列原位移植法。⑤非粘附球囊分析法相比于系列原位移植法更简便,逐渐被用来分选鉴定 CSC,CSC 细胞能在无血清添加生长因子的培养基中保持未分化状态并形成致密球体,非 CSC 则贴壁缓慢生长,CSC 得以富集。非粘附肿瘤细胞具备裸鼠体内致瘤能力和分化能力。但非粘附肿瘤球囊细胞是否是由于渗入的正常干细胞引起的这效应还有待进一步证实<sup>[22]</sup>。

## 3 肿瘤干细胞的调控机制

目前就肿瘤干细胞调控机理方面的研究成果斐然,但仍需深入研究。已有的理论主要集中在异常信号通路、肿瘤微环境影响和新近小分子 RNA 参与调节等方面。

### 3.1 小分子 RNA 在肿瘤干细胞调控中的角色

小分子 RNA(microRNAs, miRNAs)是一类短的非编码单链小分子 RNA,长度约 21~22 个核苷酸(少数小于 20 个核苷酸),能够通过和靶 mRNAs 特异性的碱基配对引起靶 mRNA 的降解或者抑制其翻译,从而对基因进行转录后表达的

调控,在细胞生长、发育和凋亡中起着非常重要的作用。miRNAs 基因以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在于基因组中,而且绝大部分定位于基因间隔区,大多以 RNAPoy II 转录且独立于其他基因,并不翻译成蛋白质,而是具有调节其他基因表达的活性,人类约 30% 基因接受 miRNA 的调控。miRNA 在肿瘤的发生发展过程也扮演着非常重要的角色,一些 miRNA 充当着抑癌基因的角色,大部分 miRNA 则有癌基因的功能。

我们的研究发现<sup>[23]</sup>,let-7 在乳腺癌肿瘤起始细胞(Breast tumor initiating cells, BT-IC)中表达下调,分化时则升高。在 BT-IC 中过表达 let-7 能抑制其增殖和肿瘤球囊的形成能力,以及移植鼠中致瘤性和迁移能力。在非肿瘤起始细胞(non-T-IC)中抑制 let-7 的表达,non-T-IC 的自我更新能力得到了加强。而 H-RAS 和 HMGA2 与 let-7 呈现负相关,在 BT-IC 中单独沉默 H-RAS 引起自我更新能力降低,对分化不产生影响。因此 let-7 通过靶向调控 BT-IC 中多个靶基因来调控其自我更新和分化过程。由此可见 miRNA 在肿瘤干细胞的自我更新和分化过程中起着重要作用。

最新的研究表明,在乳腺癌干细胞中 miR-200c-141, miR-200b-200a-429 与 miR-183-96-182 表达水平都下调,其中 miR-200c 通过靶向调控维持干细胞更新能力重要基因 BMT1 实现抑制肿瘤细胞的恶性增殖和自我更新能力。有趣的是,miR-200c 对正常乳腺干细胞也有相似的作用,提示了 CSC 与 NSC 的相关性。

受抑癌基因 p53 调控的 miR-34 与 p53 有着协同作用,在胃癌干细胞中过表达 miR-34 可以显著降低胃癌干细胞的自我更新能力和非球囊生长能力,而在 p53 缺失的胃癌细胞中 miR-34 呈现低表达,miR-34 是通过靶向抑制 Bcl-2,Notch 与 HMGA2 的表达来实现其抑癌效果。miR-34 在胰腺癌中也表现出同样的特性, Ji 等<sup>[24-25]</sup>的研究表明 CD44<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup> MiaPaCa2 胰腺肿瘤干细胞系中 miR-34 缺失,过表达 miR-34 后外源性的 miR-34 靶向下调 Bcl-2 和 Notch1/2 使 87% 的胰腺 CSC 消失。

在人脑胶质瘤中,miR-326 和 Notch-1 形成负反馈环路,Notch-1 高表达通过抑制 miR-326 的宿主基因表达而使其下调,而 miR-326 也可以反向抑制 Notch 蛋白的表达。向胶质瘤 CSC 细胞转染 miR-326 后明显降低胶质瘤 CSC 的体外成瘤能

力,但这种效应可以被转染 Notch-1 所抵消<sup>[26]</sup>。

Brabletz 等<sup>[27]</sup>研究表明,在胰腺癌和结直肠癌中,起始 CSC 细胞迁移的重要基因 ZEB1 能抑制 miR-200 家族表达,而 miR-200 家族的 miR-200c, miR-203 和 miR-183 协同抑制如 SOX2、Klf4, Bmi1 等干细胞标志基因,通过靶向 ZEB1-miR-200 环路,有望为胰腺癌的特异靶向治疗提供思路。

Lin 等<sup>[28]</sup>研究发现,向皮肤肿瘤干细胞系转染 miR-302 可引起 CSC 细胞内的大范围基因重编程而转化为胚胎干细胞样多潜能干细胞,称为 mirPS 细胞。这充分反映了 miRNA 在肿瘤干细胞及正常干细胞中占据着重要地位。

随着对 miRNA 和肿瘤干细胞研究的不断深入,miRNA 在肿瘤干细胞及正常干细胞的调节机制中所起到的作用和意义终将水落石出,同时为治愈肿瘤也带来更新更有力更有前途的方法。

### 3.2 肿瘤干细胞中的异常信号通路

在研究肿瘤干细胞信号调控机制中已有许多证据表明,维持正常干细胞自我更新和分化的重要信号通路中某些关键基因发生突变导致通路紊乱或过度激活,都将导致肿瘤的发生,肿瘤干细胞中异常的信号通路主要有 wnt、Notch、CDC2 和 EGFR 等。结肠癌、肝细胞癌和乳腺癌等肿瘤组织中 wnt 信号通路关键基因  $\beta$ -catenin 过度激活或  $\beta$ -catenin 的抑制基因 APC 失活都将导致  $\beta$ -catenin 在细胞内的积聚进而促进细胞异常增生和恶性转化<sup>[29]</sup>;Notch 信号通路在控制造血干细胞自我更新以及调控造血干细胞向粒性系或淋巴系的分化起重要作用,Notch 通路的过度激活将诱导淋巴瘤的产生<sup>[30]</sup>;细胞周期蛋白依赖性激酶(cell division cycle 2, CDC2),属于 Ser/Thr 蛋白激酶家族成员,与细胞周期蛋白 Cyclin B 形成复合物,促使细胞进入和走出 M 期。并受 CDK 抑制蛋白 CKI 的负向调控,在生理状态下使细胞分裂有序进行。在人类多种恶性肿瘤中 CDC2 通常过表达, Nozoe 等<sup>[31]</sup>在神经节细胞胶质瘤恶性发展过程中基因表达谱中发现了 CDC2 基因与神经干细胞分化相关,提示 CDC2 有可能也是神经干细胞与神经节细胞胶质瘤起源细胞分化的共同调控通路;EGFR (epidermal growth factor receptor)表皮生长因子受体(EGFR)信号转导途径在肿瘤细胞的增殖、损伤修复、侵袭及新生血管形成等方面起重要作用。恶性胶质瘤中 EGFR 基因发生扩增,与星形细胞的

前体细胞和神经干细胞的生长及转化为恶性胶质瘤密切相关。在啮齿类动物的体内表皮生长因子促进细胞增殖、阻碍细胞分化,还与组织浸润有关。另外还有 Shh 通路、PTEN 通路、NF- $\kappa$ B 等通路都与 CSC 关系密切。

### 3.3 肿瘤干细胞与微环境

CSC 的微环境(由成纤维细胞、细胞因子、脂肪细胞、内皮细胞和细胞外基质等组成)在肿瘤的发生、发展和维持过程中起着非常重要的作用<sup>[32-33]</sup>。慢性组织炎症可以引发肿瘤发生,有研究者也用炎症损伤修复模式来解释肿瘤干细胞的形成,他们认为一方面炎症微环境能高招募血源性的间充质干细胞,当与局部环境中的某种细胞发生融合后,有可能导致细胞重编程的发生,形成肿瘤干细胞;另一方面炎症微环境中的细胞因子能够持续激活与细胞增殖/自我更新有关的信号通路,导致正常组织干细胞与分化细胞的异常,形成肿瘤。

## 4 肿瘤干细胞的靶向治疗

通过对根据 CSC 生物学特性以及相关信号通路的深入研究,针对 CSC 细胞的调控机制,寻找特异性靶向 CSC 的药物,为治疗癌症提供理论基础和新途径。上述调控肿瘤生长、增殖的信号通路如 Wnt、Notch、VEGFR、CDC2、NF- $\kappa$ B 以及 PTEN 等都在肿瘤干细胞的自我更新中发挥重要的作用,因此利用相关抑制药物选择性的靶向这些异常通路,是治疗癌症的可行手段。相关研究报道,axin ( $\beta$ -catenin 的抑制因子)抑制异常激活的 Wnt 信号通路,可以使慢性粒细胞白血病的 CSC 增殖力降低<sup>[34-35]</sup>。Notch 通路  $\gamma$ -分泌酶( $\gamma$ -secretase)抑制剂 GSI218 能降低 CD133<sup>+</sup> 的细胞比率。环王巴明(Hedgehog 信号通路受体 SMO 的天然抑制剂)可使胶质瘤球的形成数目明显下降<sup>[36]</sup>。

虽然目前发现的大部分 CSC 标记在 NSC 中也存在,但随着更多 CSC 特异标记物的发现,CSC 标记有望成为治疗靶点。以高表达于急性髓性白血病干细胞中的黏附分子 CD44 为靶点,Jin 等<sup>[37]</sup>发现,H90(抗 CD44 的单克隆抗体)能有效靶向白血病干细胞,降低了白血病干细胞的自我更新和转移能力。

诱导 CSC 分化也是治疗癌症的一种方法,在利用全反式维甲酸治疗急性早幼粒白血病患者

中,大约 90% 患者获得完全缓解,超过 70% 的患者获得治愈,全反式维甲酸可能诱导了白血病干细胞的分化。骨形成蛋白(BMP)能诱导神经前体细胞分化成星形胶质细胞,在恶性胶质瘤中,BMP 能促进 CD133<sup>+</sup> 脑肿瘤干细胞的分化,并降低其致瘤能力<sup>[38]</sup>。

微环境对肿瘤干细胞的自我更新也起着重要的作用。研究表明,播散于骨髓的细胞角蛋白阳性的乳腺癌细胞,在原发灶去除后并不复发,说明干细胞的激活有可能依赖于微环境,提示可以通过改变干细胞的微环境,达到诱导其凋亡或死亡的目的。在神经系统肿瘤中,CSC 存在于微血管丰富的微环境中,扰乱这种微环境可能靶向肿瘤干细胞。用 Erlotinib (选择性的 EGFR 和 ERBB2 酪氨酸激酶抑制剂)或 Bevacizumab (抗 VEGF 的单克隆抗体)处理后,肿瘤微环境中的微血管的密度下降,肿瘤干细胞的数目也明显降低,但没有影响到肿瘤中大部分细胞的增殖和凋亡,提示其选择性地作用于肿瘤干细胞<sup>[39]</sup>。

综上所述,虽然目前实体瘤干细胞的研究仍存在一些问题如 CSC 所占肿瘤细胞总数很少且同种肿瘤中 CSC 比率变化相当大 0.1% ~ 30% 不等,给 CSC 的鉴定和分选带来困难,大多数肿瘤干细胞特异性标记仍不清楚,与正常干细胞有许多共性,缺乏有效的标记物去鉴别,同时肿瘤干细胞自我更新的机制、调节机理与小分子 RNA 间的关系还有待进一步研究。但在对肿瘤干细胞的研究不断深入中,我们逐渐对肿瘤干细胞的形成、分化、转移等多方面有了较为全面深刻的认识,由此开发出针对肿瘤干细胞的特异药物或诊断试剂将对肿瘤的预防,诊断和治疗及预后评估产生深远影响,为肿瘤患者带来福音。

(致谢:感谢中山大学附属第二医院医学研究中心潘秋辉副研究员在本文资料收集与写作过程中给予的协助)

### 参考文献:

- [1] Campbell LL, Polyak K. Breast tumor heterogeneity: cancer stem cells or clonal evolution? [J]. Cell Cycle, 2007, 6(19): 2332-2338.
- [2] Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, et al. Cancer stem cells — perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells [J]. Cancer Res, 2006, 66(19): 9339-9344.

- [3] Chaichana KL, McGirt MJ, Frazier J, et al. Relationship of glioblastoma multiforme to the lateral ventricles predicts survival following tumor resection [J]. *J Neurooncol*, 2008, 89(2): 219–224.
- [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] Bonnet D, Warren EH, Greenberg PD, et al. CD8(+) minor histocompatibility antigen-specific cytotoxic T lymphocyte clones eliminate human acute myeloid leukemia stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(15): 8639–8644.
- [6] Kondo T, Raff M. Oligodendrocyte precursor cells reprogrammed to become multipotential CNS stem cells [J]. *Science*, 2000, 289(5485): 1754–1757.
- [7] Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2007, 448(7151): 313–317.
- [8] Bachoo RM, Maher EA, Ligon KL, et al. Epidermal growth factor receptor and Ink4a/Arf: convergent mechanisms governing terminal differentiation and transformation along the neural stem cell to astrocyte axis [J]. *Cancer Cell*, 2002, 1(3): 269–277.
- [9] Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell [J]. *Nat Med*, 1997, 3(7): 730–737.
- [10] Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations [J]. *Science*, 1976, 194(4260): 23–28.
- [11] Cozzio A, Passegue E, Ayton PM, et al. Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors [J]. *Genes Dev*, 2003, 17(24): 3029–3035.
- [12] Pim D, Massimi P, Dilworth SM, et al. Activation of the protein kinase B pathway by the HPV-16 E7 oncoprotein occurs through a mechanism involving interaction with PP2A [J]. *Oncogene*, 2005, 24(53): 7830–7838.
- [13] Wright MH, Calcagno AM, Salcido CD, et al. Breast tumors contain distinct CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup> and CD133<sup>+</sup> cells with cancer stem cell characteristics [J]. *Breast Cancer Res*, 2008, 10(1): R10.
- [14] Ramdass B, Maliekal TT, Lakshmi S, et al. Coexpression of Notch1 and NF-kappaB signaling pathway components in human cervical cancer progression [J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 104(2): 352–361.
- [15] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(6): 442–454.
- [16] Hermann PC, Huber SL, Herrler T, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer [J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(3): 313–323.
- [17] Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, et al. Efficient tumour formation by single human melanoma cells [J]. *Nature*, 2008, 456(7222): 593–598.
- [18] Graham SM, Jorgensen HG, Allan E, et al. Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro [J]. *Blood*, 2002, 99(1): 319–325.
- [19] Graham SM, Jorgensen HG, Allan E, et al. Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro [J]. *Blood*, 2002, 99(1): 319–325.
- [20] Dou J, Pan M, Wen P, et al. Isolation and identification of cancer stem-like cells from murine melanoma cell lines [J]. *Cell Mol Immunol*, 2007, 4(6): 467–472.
- [21] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice [J]. *Nature*, 1994, 367(6464): 645–648.
- [22] Reynolds BA, Rietze RL. Neural stem cells and neurospheres—re-evaluating the relationship [J]. *Nat Methods*, 2005, 2(5): 333–336.
- [23] Yu F, Yao H, Zhu P, et al. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells [J]. *Cell*, 2007, 131(6): 1109–1123.
- [24] Ji Q, Hao X, Meng Y, et al. Restoration of tumor suppressor miR-34 inhibits human p53-mutant gastric cancer tumorspheres [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 266.
- [25] Ji Q, Hao X, Zhang M, et al. MicroRNA miR-34 inhibits human pancreatic cancer tumor-initiating cells [J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6816.
- [26] Kefas B, Comeau L, Floyd DH, et al. The neuronal microRNA miR-326 acts in a feedback loop with notch and has therapeutic potential against brain tumors [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(48): 15161–15168.
- [27] Wellner U, Schubert J, Burk UC, et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(12): 1487–1495.
- [28] Lin SL, Chang DC, Chang-Lin S, et al. Mir-302 reprograms human skin cancer cells into a pluripotent

- ES-cell-like state [J]. *RNA*, 2008, 14(10): 2115–2124.
- [29] Cadigan KM, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development [J]. *Genes Dev*, 1997, 11(24): 3286–3305.
- [30] baron M. An overview of the Notch signalling pathway [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2003, 14(2): 113–119.
- [31] Nozoe T, Takahashi I, Baba H, et al. Relationship between intracellular localization of p34cdc2 protein and differentiation of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2005, 131(3): 179–183.
- [32] Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S, et al. A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency [J]. *Cell*, 2007, 129(6): 1097–1110.
- [33] Mantovani A. Cancer: Inflaming metastasis [J]. *Nature*, 2009, 457(7225): 36–37.
- [34] Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(7): 657–667.
- [35] Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(7): 657–667.
- [36] Fan X, Matsui W, Khaki L, et al. Notch pathway inhibition depletes stem-like cells and blocks engraftment in embryonal brain tumors [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(15): 7445–7452.
- [37] Jin L, Hope KJ, Zhai Q, et al. Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells [J]. *Nat Med*, 2006, 12(10): 1167–1174.
- [38] Kawashima K, Nagura E, Kato Y, et al. Treatment of adult acute promyelocytic leukemia during the period of 1974–1982 [J]. *Rinsho Ketsueki*, 1984, 25(2): 121–128.
- [39] Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells [J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(1): 69–82.

(编辑 刘清海,张恩健)

(上接第 171 页 from page 171)

- [25] Xu W, Li YB, Deng WP, et al. Remission of hyperglycemia following intensive insulin therapy in newly diagnosed type 2 diabetic patients: a long term follow-up study [J]. *Chin Med J*, 2009, 122(21): 2554–2559.
- [26] Weng JP, Li Y, Xu W, et al. Effect of intensive insulin therapy on beta-cell function and glycaemic control in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a multicentre randomised parallel-group trial [J]. *Lancet*, 2008, 371(9626): 1753–1760.
- [27] 余秋琼,李明,陈香,等. 外源性胰岛素干预对高脂饮食诱导的糖尿病小鼠肝脏胰岛素信号通路的影响 [J]. *国际内科学杂志*, 2009, 36(10): 559–563.
- [28] Bi Y, Sun WP, Chen X, et al. Effect of early insulin therapy on nuclear factor kappaB and cytokine gene expressions in the liver and skeletal muscle of high-fat diet, streptozotocin-treated diabetic rats [J]. *Acta Diabetologia*, 2008, 45(3): 167–178.
- [29] 毕艳,蔡梦茵,梁华,等. 早期胰岛素治疗对糖尿病大鼠肝脏核因子- $\kappa$ B 炎症通路的影响 [J]. *中华内科杂志*, 2009, 48(1): 17–22.
- [30] 毕艳,孙卫平,陈香,等. 早期胰岛素治疗对糖尿病大鼠骨骼肌核因子  $\kappa$ B 炎症通路的影响 [J]. *中华内科杂志*, 2008, 88(46): 3287–3292.
- [31] Yan Bi, Mengyin Cai, Hua Liang, et al. Increased carnitine palmitoyl transferase 1 expression and decreased sterol regulatory element-binding protein 1c expression are associated with reduced intramuscular triglyceride accumulation after insulin therapy in high-fat-diet and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Metabolism*, 2009, 58(6): 779–786.

(编辑 张恩健,刘清海)