

[文章编号] 1007-385X(2007)06-0501-04

· 专家论坛 ·

肿瘤干细胞:起源与争论

Cancer stem cell: origin and dispute

钱其军, 刘佳, 吴孟超(第二军医大学东方肝胆外科医院, 上海 200438)



[作者简介] 钱其军, 博士, 研究员, 博士生导师; 现任第二军医大学东方肝胆外科医院病毒及基因治疗实验室主任, 浙江省基因治疗研究中心常务副主任, 浙江理工大学生命科学院新生物医药研究所副所长, 2001-2003 年被聘为香港大学临床肿瘤系肿瘤基因治疗实验室主任。1987 年毕业于第一军医大学获医学学士学位; 1990-1993 年就读于中国协和医科大学、中国医学科学院血液学研究所, 因硕士论文达到博士论文水平, 延期 1 年于 1994 年直接授予医学博士学位。主要从事肿瘤生物治疗研究, 主持 863 课题 2 项, 国家自然科学基金国际合作重大项目 1 项, 国家自然科学基金重点项目 1 项。在 *Cancer Res*、*Clinical Cancer Res* 及 *Mol Ther* 等 SCI 期刊发表论文 23 篇, 其中作为通信作者 13 篇; 申请中国发明专利共 17 项, 已授权 5 项, 另有 3 项已进入美国申请; 获上海市科技进步二等奖 1 项。E-mail: qianqj@sino-gene.cn

[摘要] 近年来, 随着干细胞理论在肿瘤研究中的广泛应用, 人们逐渐认识到在绝大多数癌症中, 肿瘤细胞很可能起源于一种肿瘤起始细胞——肿瘤干细胞, 它在机体内具有自我更新并形成肿瘤的能力。肿瘤干细胞的存在已在多种肿瘤类型与细胞系中得到证实, 并鉴定出相应的分选方法, 但人们对它的起源却莫衷一是, 干细胞突变、细胞融合、胚胎干细胞残留等都有可能是肿瘤干细胞产生的原因。通过多年对肝癌的研究, 笔者提出肝癌干细胞来源的假说: 认为干细胞在修复肝炎病毒所致肝损伤的过程中, 在病毒与炎症的双重刺激下, 干细胞与突变肝细胞之间发生细胞融合、交换, 最终产生肝癌干细胞。随着相关研究的不断深入, 肿瘤干细胞学说在理论与技术上也面临着诸多质疑与挑战, 其中有观点认为, 干细胞可能只是被趋化至癌变部位并因其可塑性而表现出恶变表型, 但并未在实质上参与肿瘤的发生与发展。

[关键词] 肿瘤干细胞; 肝癌干细胞; 基因突变; 细胞融合; 静止胚胎干细胞

[中图分类号] R730.2 [文献标志码] A

肿瘤的单克隆起源在很早就已得到证实。随着原癌基因、抑癌基因和肿瘤细胞中大量致癌突变的发现, 以及对致突变剂致癌作用的认识, 癌症的“基因突变”起源论登上了舞台。该理论认为癌症实际上是一种分子病, 其发生是由于一系列的致癌突变在细胞内积累所致。人们普遍认为, 肿瘤的发生和发展是一个多步骤过程, 多重打击导致肿瘤发生, 该学说已被广泛接受。有科学家曾对胶质瘤等从正常细胞到癌前病变、癌变及转移画出整个基因变化图, 试图寻找肿瘤发生最早期及最关键的步骤。笔者实验室在过去几十年中也试图勾勒出从肝炎、肝硬化到肝癌的基因变化规律图, 但始终无法理清整个基因变化规律, 也无法寻找到肝癌发生的最关键基因。这不得不使我们反思是否存在这种规律, 肿瘤发生究竟是一种渐变过程还是一种突变过程? 肿瘤最早期的起源究竟在哪里? 近年来肿瘤干细胞研究逐渐受到重视, 越来越多的证据表明, 类似干细胞的一类细胞是引发肿瘤的起因, 进而提出了肿瘤干细胞学说。

1 肿瘤干细胞学说

近年来, 随着干细胞概念被引入肿瘤学的研究,

以及多种肿瘤组织和癌细胞系中肿瘤干细胞得到成功分离和鉴定(表 1), “肿瘤干细胞”学说应运而生。肿瘤干细胞学说认为, 肿瘤实际上是由一小群具有无限自我更新能力的干细胞样细胞及由其产生的分化程度不均一的细胞团组成。这群干细胞样细胞被称为肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC), 而肿瘤的主体却是由失去自我更新能力的具有一定分化特征的非干细胞样细胞组成^[1]。

人们早就注意到肿瘤组织的细胞在增殖能力和表型上存在异质性(heterogeneity)。对于肿瘤异质性产生的原因, 突变渐进说认为起源于单个细胞的肿瘤细胞群在发展(progression)的过程中继续发生突变, 造成肿瘤细胞遗传和表型上的多样性(diversity)。干细胞起源说却从细胞发育学的角度作出了解释: 肿瘤可以看作是一个异常发育的器官, 肿瘤内部的异质性是肿瘤干细胞执行分化功能的自然体现, 尽管这种分化是混乱且不完全的。同时人们也

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(No. 30730104); 国家自然科学基金海外杰出青年项目(No. 30728028)。Supported by the Major Program of National Natural Science Foundation of China(No. 30730104); the National Natural Science Foundation of China for Overseas Excellent Young Scholars(No. 30728028)

注意到肿瘤细胞常常表现一些其“发源地”组织的分化特征,如特异的组织构造及表面标记分子和受体等等。这表明虽然突变在异质性产生中起一定的作用,但是用肿瘤干细胞理论来解释更为合理。

表 1 已发现的肿瘤干细胞及其标志物

肿瘤类别	肿瘤干细胞标志物
乳腺癌	CD44 ⁺ /CD24 ^(-/low) ; SP; ALDH ⁺ [2]; CD326
脑瘤及胶质瘤	CD133 ^[3] ; nestin; CD133/Sox2/Musashi-1/Bmi-1
结肠癌	CD133 ^[4] ; CD44; CD326 ^[5] ; CD166; Lgr5 ^[6]
肺癌	CD34 ⁺ /Sca-1 ⁺ ; SP
肝癌	CD133
胰腺癌	CD133; ABCG2; CD44 ⁺ /CD24 ⁺ /ESA ⁺ ; CD326
前列腺癌及其细胞系	CD133; CXCR4; CD44 ⁺ /α ₂ β ₁ ^{high} /CD133 ⁺ ; Sca 1; SP; CD326
黑素瘤	CD133; ABCG2
成肝细胞瘤	CD34 ⁺ /Thy1 ⁺ /c-kit ⁺
成视网膜细胞瘤	CD133

2 肿瘤干细胞的起源

肿瘤干细胞来源于哪一类细胞是肿瘤干细胞学说亟待解决的问题。突变的成体干细胞、祖细胞甚至体细胞、两种细胞融合或细胞质交换、残留的胚胎细胞都有可能成为肿瘤干细胞的来源。

2.1 肿瘤干细胞是正常的成体干细胞、祖细胞甚至体细胞基因突变所致

过去,人们自然而然形成一种把“多重打击”学说和癌症干细胞起源学说融合在一起的假说,该假说认为最初的突变发生在干细胞中,仅造成干细胞池(stem cell pool)一定程度的扩张,最为致命的突变最终发生在前体细胞(progenitor cells)中,造成大量低分化程度细胞无节制的疯狂增殖,这也就是说肿瘤干细胞最后是由前体细胞转化而来的。这其实引发了一场肿瘤干细胞到底是源于成体干细胞还是那些走上分化道路的前体细胞的争论。其实这两种情况并不对立,他们均存在于实际的肿瘤中,甚至是同一种肿瘤的不同阶段中。

例如,人类慢性髓细胞性白血病(CML)分为两个阶段:慢性阶段(chronic phase, CP)和爆发危机期(blast crisis, BC)。在CP期,患者造血干细胞

(HSC)中出现染色体9-22易位生成融合蛋白Bcr-Abl,该蛋白的出现对于HSC本身几乎没有影响,但会使粒-单前体细胞(GMP)发生一定的扩增,最终导致外周血中嗜中性粒细胞的数量上升。在该阶段中,只有HSC具有自我更新能力,GMP尚不具备这种能力,此时的肿瘤干细胞是发生Bcr-Abl基因融合的HSC。而在BC期,额外的突变发生于HSC或GMP中,造成控制自我更新通路的激活,不论这个突变发生在HSC还是GMP中,均致使GMP获得自我更新能力。GMP将进行快速的扩增,导致血液中大量GMP及GMP产生的不成熟粒细胞的囤积,此时的肿瘤干细胞是这些发生二次突变的HSC或GMP。在这两个阶段,CP期的肿瘤干细胞处于HSC群体中,而BC期的肿瘤干细胞要视第二次突变发生在哪种细胞而定。

致癌突变在干细胞及前体细胞中发生并积累,总结起来有三种模式:第一种模式是肿瘤干细胞由前体细胞转化而来,第二种模式肿瘤干细胞源于干细胞,第三种模式认为有一定分化特征的过渡细胞去分化(dedifferentiation)而获得干细胞特性成为肿瘤干细胞。已有一些实验结果支持第三种模型,证明分化细胞甚至是终末分化的成熟细胞的细胞核仍具有全能性,只要通过一系列特定的调控因子的重置(reprogramming),就会表现出来。近期一组日本研究人员将Oct3/4、Sox2、c-Myc和Klf4等4种转录因子的基因转入小鼠的成纤维细胞,成功诱导其去分化而表现出干细胞特性^[7]。该实验结果有力地证明了分化细胞重新获得干细胞状态是完全可能的。

由此可见,要明确肿瘤干细胞究竟起源于哪种类型的细胞是非常困难的。我们认为最有可能的情况是:肿瘤干细胞的起源是多元的,也就是说,多种类型的细胞均有成为肿瘤干细胞的可能,但不同类型细胞起源可能与肿瘤转移有明显关系。

2.2 肿瘤干细胞主要来源于细胞融合

这种观点认为肿瘤的发生是某两种细胞之间发生融合,可能是一个突变体细胞与一个成体干细胞融合,也可能是与骨髓来源的干细胞进行融合。这种理论认为肿瘤的发生可能是突然变化过程,而不是一种逐渐变化过程。

有研究表明,通过实验手段诱导细胞融合产生的杂交细胞表现出肿瘤细胞的某些特点,如快速的生长和较强的迁移能力。肿瘤干细胞就可能源于正常干细胞与突变的分化细胞的融合。两种细胞发生融合之后,一方的细胞因子对另一方的基因表达会

产生影响,有的影响可能会导致杂交的细胞被转化而变成肿瘤干细胞。转录因子的改变能够引起基因表达乃至细胞表型的变化,已经得到较多的研究结果的支持,并且在胃癌中也发现癌细胞与骨髓来源的细胞融合的现象。

许多能够致癌的病毒就可能通过促进细胞的融合而诱发肿瘤的发生。Dueli 等的最新研究表明,病毒会诱导融合被原癌基因破坏了其细胞周期的细胞而造成大量染色体的不稳定性。如果将这些杂合细胞移植到小鼠中,其中一部分将会导致上皮细胞瘤的产生。这项研究表明具有融合能力的病毒,包括那些可能与肿瘤并没有关系的病毒,可以导致染色体的不稳定性,从而导致肿瘤的产生。此外,炎症与肿瘤的相关性也可能由引发炎症的病毒促使细胞融合而产生的。尽管细胞融合在肿瘤发展中所起的作用是已被证实的,但其在肿瘤发生中的具体作用尚需深入的研究。

笔者实验室研究证实,肿瘤细胞与正常细胞之间存在着大量小管,两种细胞可以通过小管进行蛋白质、微小 RNA 甚至线粒体的交换。这种交换还可能通过分泌小囊泡进行。通过这种相互交换,肿瘤细胞与正常细胞间发生了遗传物质或转录因子的转移,这种转移也有可能导致肿瘤干细胞产生。

2.3 肿瘤干细胞起源于残留的静止胚胎干细胞

癌症起源于干细胞的说法来自 19 世纪“胚胎静止”的观点。1 个多世纪后,仍有一些科学家认为肿瘤起源于静止的胚胎干细胞,肿瘤的发生是这种静止胚胎干细胞受到某种刺激后被激活产生的。这种观点的主要证据是将胚胎干细胞接种到脑或肝脏,可产生畸胎瘤,出现畸胎瘤干细胞,同时在很多肿瘤干细胞中表达一些在胚胎干细胞的标记基因如 OCT-4、Sox2 等。

2.4 肿瘤干细胞起源与病毒有关

病毒致癌的观点已被广泛接受,但病毒如何引起肿瘤的发生仍有广泛争议。最被接受的学说是病毒整合到基因组中激活和(或)抑制某些癌基因及抑癌基因,同时病毒的某些蛋白干扰了癌基因及抑癌基因,从而导致细胞生长不受控制,经过多次其他打击后最终形成肿瘤。这种学说将病毒看作是肿瘤发生的一种打击因素。尽管我们在研究肝癌发生过程中发现 HBV X 蛋白与肿瘤有一定关系,但始终没能在肝癌中找到 HBV 特定基因整合位点。另一种学说是病毒引发慢性炎症从而促使肿瘤的发生,这种观点与细胞融合的观点相似。近期美国匹兹堡大学的 Chaudhary 博士提出了一种新观点^[8],认为病

毒只是选择已存在的变异细胞群,促进其进一步生长和复制,最终形成完全癌变的细胞。

2.5 肝癌干细胞起源的假说

根据多年的研究成果,笔者提出肝癌干细胞起源的假说:认为乙肝病毒、丙肝病毒导致肝脏慢性炎症发生,诱导肝细胞死亡,这需要大量干细胞来修复;这种干细胞极有可能来源于骨髓细胞;尽管我们还不清楚这群干细胞的来源可能是造血干细胞、间充质干细胞、骨髓来源的成体祖细胞,甚至也可能是一群我们尚未认识的干细胞,它们与突变的肝细胞受到病毒及慢性炎症双重刺激,产生细胞间的融合或(和)细胞间蛋白质及微小 RNA 交换,从而导致肝癌干细胞产生。这种假说可以解释为什么在肝癌标本中乙型肝炎的表面抗原表达量总是明显低于癌旁细胞,也可以解释为什么总有一些少量(<5%) CD34 阳性细胞会出现在肝癌组织中。

3 肿瘤干细胞的争议

肿瘤干细胞学说从提出之日起,就一直受到各方面不同观点的质疑与挑战。也正是由于经历了这些挑战,肿瘤干细胞学说逐渐变得日益成熟。但是近些年来的发现与进展对肿瘤干细胞学说提出了更多的问题,促使我们从更多的角度与更广阔的思路去认识肿瘤与肿瘤干细胞。

目前肿瘤干细胞学说在理论上与技术上都存在一些还没有解决的问题。肿瘤干细胞的分选可能会破坏肿瘤以及肿瘤干细胞生长的微环境,在这样的条件下分离出的肿瘤干细胞是否代表其天然性质还有待进一步研究。此外分选过程中胰酶的消化也可能影响到表面分子标志的状态及内在的基因表达,依赖于表面分子标志的分选方法可能还存在缺陷。检测肿瘤干细胞的一个很重要的标准是免疫缺陷鼠成瘤性测试。这一标准在近年来受到了质疑。Strasser 等^[9]认为小鼠作为模型动物与人相比还是存在较大的差异,肿瘤干细胞只是肿瘤中一小部分细胞的原因可能是只有一小部分移植瘤能够适应小鼠体内的微环境生长。实际情况可能是所有的肿瘤细胞都能导致肿瘤发生。

2007 年 3 月, Dana-Farber 癌症研究院 Kornelia Polyak 等^[10]在分子水平上挑战了“肿瘤干细胞”假说。他们通过对人类乳腺癌样本中 CD44⁺ 与 CD24⁺ 细胞之间基因表达水平的分析,发现这两种细胞代表不同的细胞群,在基因表达及表观遗传方面存在着诸多的不同,所以它们并非是亲代和子代的关系,进而提出克隆进化学说能更合理地解释肿

瘤的异质性。而且,CD44⁺细胞与CD24⁺细胞相比更具有干细胞特性,具有干细胞相关的活化的信号转导途径,如TGF- β 。

2007年8月美国佛罗里达州大学的Chris Cogle等^[11]发现在肿瘤内存在着5%的骨髓干细胞,这些骨髓干细胞外表看起来像是恶性细胞,但是这些细胞是否能够促进癌症形成和扩散还不确定。这项新的研究发现对越来越流行的骨髓干细胞衍生癌症的理论提出了挑战。这些干细胞和癌细胞具有相同类型的表面蛋白,它们到达癌症区域并看起来像周围的可塑性组织,但是它们事实上并不是癌症的种子。可能的情况是,这些骨髓细胞只是被趋化至癌变环境而已。

4 总结与展望

肿瘤是由肿瘤干细胞无限制自我更新和混乱发育而成的畸形器官或组织。肿瘤干细胞可能源于多种类型的细胞,正常干细胞是其中的一个来源。干细胞本身突变的积累和表观遗传的改变以及微环境的异常变化都能够导致肿瘤的发生。对称分裂和不对称分裂两者的转化的紊乱在癌变中的影响也不能忽视。肿瘤干细胞可能起源于特定组织的干细胞和骨髓干细胞,它们也可能起源于逆分化的体细胞。此外,肿瘤干细胞的产生可能是细胞融合或基因水平转移的结果。因此,“肿瘤干细胞”与一群有着某些共同特性(如自我更新和引发肿瘤能力)的细胞有关。我们面临的挑战是如何识别这一群细胞?这群细胞究竟具有怎样的特性?他们之间的异同点是什么?另一个挑战是确定肿瘤干细胞与正常干细胞间的差别,对于特异差别的鉴定将对未来的肿瘤治疗提供一些新的靶标。

不断出现的新现象、新理论对现有的观点的挑战促进了人们对肿瘤本质的认识,我们在与癌症的战斗中已经取得了不少的成就,虽然前面的路仍然艰辛而漫长,但坚信人类终将战胜肿瘤。

[参考文献]

- [1] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, *et al.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells[J]. *Nature*, 2001, 414(6859): 105-111.
- [2] Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, *et al.* ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome[J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(5): 555-567.
- [3] Beier D, Hau P, Proescholdt M, *et al.* CD133⁺ and CD133⁻ glioblastoma-derived cancer stem cells show differential growth characteristics and molecular profiles[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(9): 4010-4015.
- [4] Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, *et al.* Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells[J]. *Nature*, 2007, 445(7123): 111-115.
- [5] Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, *et al.* Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(24): 10158-10163.
- [6] Barker N, Van Es JH, Kuipers J, *et al.* Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5[J]. *Nature*, 2007, 449(7165): 1103-1107.
- [7] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-676.
- [8] Zhao J, Punj V, Matta H, *et al.* K13 blocks KSHV lytic replication and deregulates vIL6 and hIL6 expression: a model of lytic replication induced clonal selection in viral oncogenesis[J]. *PLoS ONE*, 2007, 2(10): e1067.
- [9] Kelly PN, Dakic A, Adams JM, *et al.* Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells[J]. *Science*, 2007, 317(5836): 337.
- [10] Shipitsin M, Campbell LL, Argani P, *et al.* Molecular definition of breast tumor heterogeneity[J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(3): 259-273.
- [11] Cogle CR, Theise ND, Fu D, *et al.* Bone marrow contributes to epithelial cancers in mice and humans as developmental mimicry[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(8): 1881-1887.

[收稿日期] 2007-11-05

[修回日期] 2007-11-10

[本文编辑] 郁晓路

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中统计学符号规范化书写的要求

本刊严格遵守国家标准 GB 3358-93《统计学术语》的有关规定。为此,请作者书写统计学符号时注意以下要求:(1)样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} ,不用大写 X ,也不用 Mean 或 M ;(2)标准差用英文小写 s ,不用 SD;(3)标准误用英文小写 $s_{\bar{x}}$,不用 SE;(4) t 检验用英文小写 t ;(5) F 检验用英文大写 F ;(6)卡方检验用希腊文小写 χ^2 ;(7)相关系数用英文小写 r ;(8)自由度用希腊文小写 ν ;(9)样本数用英文小写 n ;(10)概率用英文大写 P ;(11)以上符号 \bar{x} 、 s 、 $s_{\bar{x}}$ 、 t 、 F 、 χ^2 、 r 、 ν 、 n 、 P 均为斜体。请作者注意遵照执行。

(本刊编辑部)