

[文章编号] 1007-385X(2008)02-0185-04

CD133 在实体肿瘤干细胞研究中的作用

Role of CD133 in tumor stem cell research

孟祥姣 综述; 王秀问, 马道新 审阅 (山东大学 齐鲁医院 肿瘤防治中心, 济南 250012)

[摘要] 肿瘤干细胞理论的提出使靶向性杀伤肿瘤干细胞成为可能, 而肿瘤干细胞的研究关键是寻找特异性表面分子标志物。表面黏附分子 CD133 是一种跨膜糖蛋白, 其表达的一个显著特点就是, 随着细胞的分化迅速下调, 这使得它成为一个分离和鉴定干细胞和祖细胞的独特分子标志。作为理想的分子标志, CD133 在脑肿瘤、前列腺癌、结肠癌、喉癌和肝癌等多种实体肿瘤干细胞分离研究中发挥着重要作用。多种实验证实, CD133⁺ 细胞与肿瘤信号转导、肿瘤免疫逃逸、药物耐受和放疗抵抗均有相关性, CD133⁺ 细胞可望成为肿瘤治疗的新靶点。

[关键词] 肿瘤干细胞; CD133; 分子标志

[中图分类号] R730.2; R392.12 **[文献标志码]** A

肿瘤的发病率越来越高, 但是由于目前的治疗手段不理想, 多数患者肿瘤不能根治, 最终因肿瘤的复发和转移而死亡。肿瘤干细胞理论使我们看到了根治肿瘤的希望。尽管肿瘤干细胞的研究较多, 但是多数实体肿瘤还没有找到理想的分子标志物来分离干细胞, 所以实体肿瘤干细胞研究最重要的课题就是寻找肿瘤干细胞特异性标志物。近几年的研究显示^[1,4], 表面黏附分子 CD133 是多种实体肿瘤干细胞的表面标志分子。本文就 CD133 在实体肿瘤干细胞研究中重要作用作一综述。

1 肿瘤干细胞理论的提出和依据

1.1 肿瘤干细胞理论的提出

1994 年 Lapidot 等^[1]研究急性髓系白血病(acute myeloid leukaemia, AML)时发现只有 0.1% ~ 1.0% 的白血病细胞拥有致白血病的能力。1997 年 Bonnet 等^[2]发现表型为 CD34⁺CD38⁻ 的 AML 细胞在非肥胖性糖尿病型/重度联合免疫缺陷小鼠(nonobese diabetic/severe combined immunodeficient immunocompromised mice, NOD/SCID)骨髓中可以形成 AML, 这些细胞拥有分化和增殖能力, 这是第一次鉴别出人 AML 干细胞。借鉴 AML 的研究, 提出实体肿瘤干细胞理论: 恶性肿瘤组织中并非所有肿瘤细胞都具有恶性特征, 仅少量肿瘤细胞在恶性肿瘤的发展过程中起着干细胞(可能为肿瘤干细胞)的作用, 它们具有不断自我更新和分化的能力, 可以维持恶性肿瘤组织的生长和转移, 还可以分化成各种肿瘤细胞和非肿瘤细胞; 它们在恶性肿瘤的发生、发展和转移过程中起着决定性的作用; 而肿瘤组织中大部分细胞经过短暂的分化后, 即使没有化疗药物和放射线的作用也会最终走向死亡。

1.2 实体肿瘤干细胞存在的依据

2003 年, Al-Hajj 等^[3]使用流式细胞分选技术, 根据肿瘤细胞表面抗原的差异, 将乳腺癌的肿瘤细胞分离为不同表型的肿瘤单细胞悬液, 并分别注射到 NOD/SCID 小鼠体内。结果显示, 只有 200 个细胞就可在 NOD/SCID 小鼠体内形成肿瘤, 这极少部分肿瘤细胞的表面标志为 ESA⁺CD44⁺CD24⁻/low Lineage⁻。Singh^[4]以 CD133 为分子标志从一系列脑肿瘤分离出肿瘤干细胞。CD133⁺ 细胞具有很强的自我更新和分化能力, 100 个 CD133⁺ 细胞就能在 NOD/SCID 小鼠体内形成肿瘤。该细胞亚群存在于成神经管细胞瘤、星形细胞瘤、室管膜细胞瘤和神经节神经胶质瘤中。这些研究证实了实体瘤中存在肿瘤干细胞。

2 CD133 的结构和转录调控

表面黏附分子 CD133 的一个显著特点就是: CD133 的表达随着细胞的分化迅速下调^[5], 使它成为一个独特的分离和鉴定干细胞和祖细胞的分子标志。

2.1 CD133 的结构

CD133 是一个单拷贝基因产物, 该基因位于 4 号染色体(4p15), 包含 37 个外显子; CD133 糖蛋白是细胞表面蛋白超家族中的一员, 相对分子量为 117 000, 由 865 个氨基酸组成, 具有独特的结构: 一个细胞外区的 N-端, 5 个跨膜区域, 有两个大的细胞外 loop 环, 一个 59 个氨基酸的细胞内尾, 8 个 N-糖基化区^[6-7]。

2.2 启动子对 CD133 的转录调控

[基金项目] 山东省科技厅重点攻关项目(No. 2006GG3202010) Supported by Key Research Project of Shandong Province (No. 2006GG3202010)

[作者简介] 孟祥姣(1981-), 女, 山东省潍坊市人, 硕士生, 主要从事肿瘤内科学方面的研究

* Corresponding author. E-mail: wangxw12@yahoo.com

Sergey 等^[8]研究显示,人类至少有 9 个 UTR 外显子,使得 *CD133* mRNA 至少有 7 个 5'-UTR 异构体,其表达呈组织依赖性。*CD133* 异构体的转录由 5 个不同的启动子 P1、P2、P3、P4 和 P5 控制,用荧光素酶报告系统检测这些外显子在 *CD133*⁺ 细胞中的活性,P1 和 P2 活性明显升高,P3、P4 和 P5 活性没有明显变化。组织特异性 *CD133* 启动子的鉴别提供了一个特异性分离干细胞和祖细胞的有效方法。

2.3 *CD133* 亚型的分布

CD133 存在 2 种亚型:以往报道的 *CD133*,命名为 *CD133-1*;Yu 等^[9]克隆并鉴定出 *CD133* 另一种亚型,命名为 *CD133-2*。*CD133-1* 在胎脑和骨骼肌中占优势;*CD133-2* 在许多人类胎儿组织和成熟组织中占优势,说明两种亚型在胎儿的发育和成熟组织的稳定方面起不同的作用。另外,*CD133-2* 在肺癌 LX-1、前列腺腺癌 GI-103、结肠腺癌 CX-1 和乳腺癌 GI-101 中强表达;但是在前列腺腺癌 PC3、肺癌 GI-117、卵巢癌 GI-102 和结肠癌 GI-112 中不表达^[9]。*CD133* 亚型在不同肿瘤组织中表达不同,提供了一个特异性分离干细胞亚群的方法。

3 *CD133* 在实体肿瘤干细胞分离和鉴定中的作用

3.1 脑肿瘤

Singh 等^[4,10]利用 *CD133* 从不同类型的脑肿瘤组织分离并纯化出肿瘤干细胞,*CD133*⁺ 细胞有显著的增殖能力、自我更新能力和分化能力,将少至 100 个 *CD133*⁺ 细胞接种到 NOD/SCID 小鼠脑组织就能形成肿瘤,传代后能够连续接种,而且在 NOD/SCID 小鼠组织中形成的肿瘤与患者原发肿瘤表型相同;*CD133*⁻ 细胞多达 1×10^5 个细胞不能形成肿瘤。随后以 *CD133* 为分子标志从儿童和成人脑胶质瘤中分离出了肿瘤干细胞^[11-12]。与以往研究结果不同的是 Beier 等^[13]从 22 例胶质瘤标本中分选出 *CD133*⁺ 和 *CD133*⁻ 细胞,0.5%~2% 的 *CD133*⁻ 细胞也能形成新的肿瘤,连续繁殖 3 代以上,保持表型不变;接种到重度联合免疫缺陷小鼠(severe combined immunodeficient immunocompromised mice, SCID)体内能形成较大的胶质瘤样病变。

3.2 前列腺癌

Collins 等^[14]使用分子标志 *CD44*⁺/ $\alpha 2\beta 1$ hi/*CD133*⁺ 分选前列腺癌干细胞。任何肿瘤均有接近 0.1% 的细胞表达 *CD44*⁺/ $\alpha 2\beta 1$ hi/*CD133*⁺, 该群细胞有很强的自我更新能力,能分化为克隆性和非克隆性细胞,分化的细胞表达雄激素受体和前列腺酸性磷酸酶。Miki 等^[15]从良性(RC-165N/hTERT)和恶性(RC-92a/hTERT)前列腺细胞系中分选干细胞,*CD133*⁺ 细

胞有很高的增殖潜能,并能分化为雄激素受体(androgen receptor, AR)阳性细胞。

3.3 肝癌

Suetsugu 等^[16]发现肝癌细胞系 Huh-7 中细胞表达 *CD133*。与 *CD133*⁻ 细胞相比,*CD133*⁺ 细胞在体外增殖能力更高,成熟干细胞标志的谷氨酰胺合成酶和细胞色素 P450 3A4 的 mRNA 表达水平更低。将细胞移植到 SCID 小鼠表皮下,*CD133*⁺ 细胞能够形成肿瘤,而 *CD133*⁻ 细胞不能或者很少形成肿瘤。Ma 等^[17]以 *CD133* 为分子标志从人肝癌细胞系分离纯化肿瘤干细胞,与 *CD133*⁻ 细胞相比,*CD133*⁺ 细胞有以下特点:只占很少的一部分,具有更高的集落形成能力、增殖能力和体内成瘤能力。

3.4 结肠癌

O'Brien 等^[18]利用 *CD133* 分选出结肠癌激发细胞(Colon cancer initiating cell, CC-IC),纯化实验证实 CC-IC 细胞是 *CD133*⁺ 细胞。将细胞接种到 NOD/SCID 小鼠肾被膜下,*CD133*⁺ 细胞能够形成肿瘤,*CD133*⁻ 细胞不能形成肿瘤。Ricci-Vitiani 等^[19]也分选出 CC-IC, CC-IC 都包括在 *CD133*⁺ 细胞中,该群细胞大约占整个肿瘤细胞的 2.5%。将细胞接种于 SCID 小鼠皮下,*CD133*⁺ 细胞形成与原发肿瘤表型相同的肿瘤,而 *CD133*⁻ 细胞不能形成肿瘤;在连续接种几代之后,肿瘤形成逐渐加快,而表型没有明显的变化;*CD133*⁺ 结肠癌细胞在无血清培养基中以肿瘤球的形式指数生长超过 1 年,形成的肿瘤表型保持与原发肿瘤相同。

3.5 喉癌

Zhou 等^[20]用免疫磁珠分选技术从喉癌 Hep-2 细胞系分离纯化 *CD133*⁺ 肿瘤细胞,*CD133*⁺ 细胞占 3.22%,*CD133*⁺ 细胞在无血清培养基中第 3 天、5 天和 7 天的吸光度分别为 0.320、0.370 和 0.558,均高于相同条件下未分选细胞和 *CD133*⁻ 细胞;*CD133*⁺ 细胞在培养细胞中的比例逐日下降,至培养的第 12 天,由第 1 天的 90.88% 下降至 4.53%。喉癌 Hep-2 细胞系中,*CD133*⁺ 肿瘤细胞有比其他细胞亚群强的体外分化和增殖能力,*CD133* 是喉癌起始细胞的标志之一。

4 *CD133*⁺ 细胞可成为肿瘤治疗的新靶点

4.1 *CD133*⁺ 细胞与信号转导

CD133⁺ 细胞是很少的一部分细胞,肿瘤对目前治疗手段的抵抗可能与该群细胞的存在有关。Virginie 等^[21]发现 Hedgehog-(HH)-GLI 信号调节脑胶质瘤干细胞基因表达和 *CD133*⁺ 细胞的自我更新能力,维持肿瘤的生长和存活。HH-GLI 信号通路的组成部分有 GLI1、SHH、PTCH1 和 SMOH。用 SMOH 特异性抑制剂 cyclopamine 处理 *CD133*⁺ 细胞,即干扰 HH-GLI 信号通

路,该细胞增殖降低而凋亡增加,此现象与 cyclopamine 浓度有关;处理 20 d 后,细胞完全死亡;如果 5 d 后除去药物,细胞能够复原,显示 cyclopamine 的暂时性细胞抑制作用和细胞毒作用。裸鼠体内实验显示,如果对 HH-GLI 进行干扰,则胶质瘤细胞在裸鼠体内形成的肿瘤体积缩小,CD133⁺ 细胞成瘤能力与 HH-GLI 信号通路活化相关。用 cyclopamine 处理分选的细胞 4 h,与 CD133⁻ 细胞相比,CD133⁺ 中 GLI1、PTCH1、NANOG、SOX2 和 OCT4(后 3 种为干细胞标志)的表达分别下降了 50%、40%、10%、57% 和 20%。显示干预 HH-GLI 信号转导通路可直接抑制 CD133⁺ 细胞的干细胞特性,可以以此信号通路作为新的治疗的作用靶点。

4.2 CD133⁺ 细胞与免疫逃逸

目前对肿瘤免疫机制的研究比较多,但是对 CD133⁺ 细胞免疫机制的研究还较少。Wu 等^[22] 研究两个星形细胞瘤和两个胶质瘤中 CD133⁺ 细胞的免疫原性,流式细胞仪检测显示大多数 CD133⁺ 细胞不表达可检测的 MHC I 或 NK 细胞活化配体,这可能使它们能够逃避固有免疫和适应性免疫的监视。CD133⁺ 细胞与 IFN- γ 共孵育,CD133⁺ 细胞表达 MHC I 和 NK 细胞配体比例明显增加。用 IFN- γ 预处理 CD133⁺ 细胞,能够使这些细胞对 NK 细胞介导的溶细胞作用敏感。但是没有发现 CD133⁺ 和 CD133⁻ 细胞在 MHC I 和 NK 配体方面有明显的不同,有可能这两种细胞利用相同的机制逃避免疫监视。用 IFN- γ 处理,一部分 CD133⁺ 细胞能够表达 MHC I 和 NK 配体,增强了免疫细胞识别和破坏的能力;但是在体内增加 CD133⁺ 细胞免疫原性所需的 IFN- γ 的浓度和持续时间还不确定。对 CD133⁺ 细胞的进一步研究,有可能发现独一无二的抗原表位,并以此作为免疫治疗的靶点,加强以后的治疗。

4.3 CD133⁺ 细胞与药物耐受

CD133⁺ 细胞可能是主要的耐药细胞,化疗药物不能对其起作用,是化疗后肿瘤复发和转移的根源。Liu 等^[23] 以 CD133 为分选标志,用流式细胞分选技术从胶质瘤细胞系 No. 66、No. 377 和 No. 1049 中分选出 CD133⁺ 细胞和 CD133⁻ 细胞。在 CD133⁺ 细胞和 CD133⁻ 细胞中分别加入不同浓度的替莫唑胺、卡铂、紫杉醇和依托泊苷,培养 48 h,结果显示 CD133⁺ 细胞对化疗有明显的抵抗作用。为了研究 CD133⁺ 细胞的耐药机制,检测 CD133⁺ 细胞和 CD133⁻ 细胞多种基因 mRNA 水平,结果显示:与 CD133⁻ 细胞相比,CD133⁺ 细胞乳腺癌耐药相关蛋白 1 (breast cancer resistance protein 1, BCRP1) 和 DNA 错配修复基因 O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(O6-methylguanine DNA methyltransferase, MGMT) mRNA 水平显著升高(分别 6.5 倍和 32.4 倍);抗凋亡基因 *FLIP*、*BCL-2* 和 *BCL-XL* 水平

增高(分别 294、13.9 和 5.6 倍);凋亡蛋白抑制家族(inhibitor of apoptosis protein, IAPs) 蛋白 XIAP、cIAP1、cIAP2、NAIP 和 survivin 也显著升高(分别 21.9、39.0、3.0、12.1 和 1.6 倍)。以上数据显示 CD133⁺ 细胞对化疗药物的耐受能力可能与 CD133⁺ 高表达 BCRP1 和 MGMT、抗凋亡蛋白和凋亡蛋白抑制剂有关。另外与新诊断的肿瘤组织相比,复发的胶质瘤组织中 CD133 的表达显著增高。CD133⁺ 对化疗药物的耐受导致肿瘤的复发,以后的治疗可以以这小群细胞为靶目标,以改善肿瘤患者的生存率。

4.4 CD133⁺ 细胞与放疗抵抗

CD133⁺ 细胞可能是抵抗放疗的一群细胞,这一点在 Bao 等^[24] 所做的实验中被证实。与 CD133⁻ 细胞相比,放疗后 CD133⁺ 细胞所占比例增高:体外培养的胶质瘤细胞放疗后与未放疗相比,CD133⁺ 细胞富集了 4 倍;在免疫缺陷小鼠脑内形成的肿瘤放疗后与未放疗相比,CD133⁺ 细胞富集了 3~5 倍;新鲜肿瘤标本中分离的细胞,放疗前 CD133⁺ 细胞所占的比例为 2%~3%,放疗后增加至 6%~10%。另外,放疗前后,CD133⁺ 细胞致瘤能力保持不变。以上结果显示,与 CD133⁻ 细胞相比 CD133⁺ 更能耐受放疗。CD133⁺ 细胞放疗抵抗是由于 CD133⁺ 细胞中毛细血管扩张性共济失调症突变蛋白(ataxia telangiectasia mutated, ATM)、蛋白 Rad17、激酶 Chk1(checkpoint kinases 1) 和 Chk2 的活化明显高于 CD133⁻ 细胞,调控 Rad17 的关键氨基酸残基 Ser645 磷酸化基线升高,放疗直接激活 ATM 激酶。体外特异性阻断 Chk1 和 Chk2 激酶的活化可以逆转 CD133⁺ 细胞的放疗抵抗。以上研究结果显示,CD133⁺ 细胞是代表了一群对放疗不敏感的细胞,是放疗后肿瘤复发的根源。以干细胞 DNA 损伤检测点为靶目标进行干预可以克服肿瘤的放疗抵抗,以更好的治疗肿瘤。

5 结 语

总之,CD133 在实体瘤干细胞的研究中起着十分重要的作用。脑肿瘤干细胞研究^[4,10] 显示,CD133 可以作为筛选干细胞的独立因素;前列腺癌干细胞研究^[14] 显示,CD133 可以和其他表面标志共同作为筛选干细胞的标志;肝癌、结肠癌和喉癌干细胞的研究^[16-20] 显示,CD133⁺ 细胞只占所有肿瘤细胞的一小部分,是富集肿瘤干细胞的一群细胞;CD133 有可能是多种实体瘤干细胞共同的表面标志。如果的确如此,我们就可以通过 CD133 来纯化干细胞,研究其蛋白表达和信号转导,甚至以 CD133 作为靶向治疗的靶点,从而根治肿瘤。但是也有文献报道^[13],CD133⁻ 细胞中含有部分干细胞。所以 CD133 是否是所有实体瘤干细胞的

共同表面标志,还需大量的实验加以证明。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] Bonnet D, Dick LE. Human acute myeloid leukaemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell [J]. *Nat Med*, 1997, 3(7): 730-737.
- [3] 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.
- [4] Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, *et al.* Identification of a cancer stem cell in human brain tumors[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(18): 5821-5828.
- [5] Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, *et al.* Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors[J]. *Blood*, 2000, 95(3): 952-958.
- [6] Breathnach R, Chambon P. Organization and expression of eucaryotic split genes coding for proteins[J]. *Annu Rev Biochem*, 1981, 50:349-383.
- [7] Shmelkov SV, St Clair R, Lyden D, *et al.* AC133/CD133/Prominin-1[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(4): 715-719.
- [8] Shmelkov SV, Jun L, St Clair R, *et al.* Alternative promoters regulate transcription of the gene that encodes stem cell surface protein AC133[J]. *Blood*, 2004, 103(6): 2055-2061.
- [9] Yu Y, Flint A, Dvorin EL, *et al.* AC133-2, a novel isoform of human AC133 stem cell antigen[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(23):20711-20716.
- [10] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, *et al.* Identification of human brain tumour initiating cells[J]. *Nature*, 2004, 432(7015):396-401.
- [11] 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.
- [12] Galli R, Binda E, Orfanelli U, *et al.* Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(19):7011-7021.
- [13] 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.
- [14] Collins AT, Berry PA, Hyde C, *et al.* Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23):10946-10951.
- [15] Miki J, Furusato B, Li H, *et al.* Identification of putative stem cell markers, CD133 and CXCR4, in hTERT-immortalized primary nonmalignant and malignant tumor-derived human prostate epithelial cell lines and in prostate cancer specimens[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(7): 3153-3161.
- [16] Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, *et al.* Characterization of CD133⁺ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 351(4): 820-824.
- [17] Ma S, Chan KW, Hu L, *et al.* Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(7):2542-2556.
- [18] O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, *et al.* A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice [J]. *Nature*, 2007, 445 (7123): 106-110.
- [19] 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.
- [20] Zhou L, Wei X, Cheng L, *et al.* CD133, one of the markers of cancer stem cells in Hep-2 cell line[J]. *Laryngoscope*, 2007, 117(3):455-460.
- [21] Clement V, Sanchez P, de Tribolet N, *et al.* HEDGEHOG-GLII signaling regulates human glioma growth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity[J]. *Curr Biol*, 2007, 17(2):165-172.
- [22] Wu A, Wiesner S, Xiao J, *et al.* Expression of MHC I and NK ligands on human CD133⁺ glioma cells: possible targets of immunotherapy[J]. *J Neurooncol*, 2007, 83(2): 121-131.
- [23] Liu G, Yuan X, Zeng Z, *et al.* Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133⁺ cancer stem cells in glioblastoma[J]. *Mol Cancer*, 2006, 5: 67.
- [24] Bao S, Wu Q, McLendon RE, *et al.* Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response[J]. *Nature*, 2006, 444(7120): 756-760.

[收稿日期] 2007 - 10 - 31

[修回日期] 2008 - 02 - 22

[本文编辑] 郁晓路

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿!