

[文章编号] 1007-385X(2008)03-0201-04

· 述评 ·

关于肿瘤干细胞问题的一些思考

胡以平(第二军医大学 细胞生物学教研室, 上海 200433)



[作者简介] 胡以平, 理学博士, 教授, 博士生导师。第二军医大学细胞生物学教研室主任和转基因动物研究室主任, 中国科学院干细胞重点实验室客座教授。1986年9月至1992年7月, 师从复旦大学遗传学研究所刘祖洞教授攻读硕士学位和博士学位。1994年6月至1997年8月和2000年7月至2001年9月, 先后在美国 Roswell Park 肿瘤研究所接受博士后训练和合作研究, 2006年12月至2007年9月在美国 Yale 大学免疫学系任副研究员。1993年被评为上海市科技启明星, 享受上海市政府特殊津贴。1997年被评为上海市优秀留学归国人员和上海市育才奖。1998年获总后勤部优秀教师称号, 2000年被评为国家教育部骨干教师。曾兼任中国环境诱变剂学会副秘书长、中国细胞生物学会常务理事兼细胞工程与转基因生物分会副会长、上海市细胞生物学会副理事长, 以及《Journal of Genetics and Genomics》和《遗传》责任编委等。先后承担来自国家 863 计划、国家攀登计划、自然科学基金重大项目、科技部攻关项目和上海市重大项目等多项研究课题。有“乙肝转基因小鼠模型”(被评为 1997 年中国十大医学科技新闻) 和唾液酸转移酶 ST4 基因表达调控机制(被 Ajit Varki 所著教科书《Essential of Glycobiology》引用, 1999) 等科研成果, 有 1 篇研究论文被评为“2006 年中国百篇最具影响优秀国际学术论文”(见本期 204 页)。E-mail: yphu@smmu.edu.cn。

[摘要] 肿瘤干细胞是当今生物医药领域中的一个热点问题, 它有可能为临床上肿瘤预防、诊断和治疗手段的研究和发展提供一套全新的知识体系。但由于其研究还很不充分, 故其基本的知识体系还未形成。本文介绍了作者就肿瘤干细胞生物学中的几个重要问题的理解和评论, 并介绍了目前这一领域中所存在的主要争议, 以期引起肿瘤及其相关专业研究人员的关注和讨论。

[关键词] 干细胞; 肿瘤干细胞; 起源; 特性

[中图分类号] R738.1; R730.54 [文献标志码] A

Points to be considered on tumor stem cells

Hu Yi-ping(Department of Cell Biology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] The tumor stem cell has attracted more and more attentions in recent years, which is involved in a possibility that the knowledge on the tumor stem cell would be a novel base for the developing of research fields in the tumor prevent, diagnose and therapy. However, the basic knowledge system on tumor stem cell has not formed as an enough research about it has not been done. In this commentary, the author presents his understanding on several biological issues of tumor stem cells, and some controversy in this field as well. The author also wishes his necessary information would induce reader's interesting and future considerations.

[Key words] stem cell; tumor stem cell; origin; characteristics

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(3): 201-204]

肿瘤干细胞(tumor stem cell)被认为是一种增殖特性失控的、可以形成肿瘤的, 并具有干细胞基本特性的细胞, 也称为肿瘤形成细胞(tumor-initiating cell)或癌干细胞(cancer stem cell)^[1]。就目前的进展来看, 肿瘤干细胞有可能会为人类癌症防治研究提供一个全新的知识体系, 也许正因为于此, 它开始受到了生物医药领域的广泛关注。然而, 这方面的研究还很不充分, 许多很基本的问题还仍然处于认

识或争议的过程之中。本文拟以先前论文“干细胞: 生物医药研究的新靶标”为知识背景^[2], 就目前肿瘤干细胞研究有关的几个生物学问题作一评论。

[基金项目] 国家高技术研究发展(863)计划资助项目(No. 2006AA02Z474)。Supported by the National High Technology Research and Development Program of China(No. 2006AA02Z474)

1 组织特异性干细胞在组织器官中的存在

尽管目前对组织干细胞的认识还十分有限,也不知道它与肿瘤干细胞的关系究竟如何,但可以肯定它对于肿瘤干细胞的起源,以及肿瘤发生发展的机制一定是很重要的。目前有一个基本概念正趋于形成,即机体内维持组织器官结构和功能动态平衡的细胞生物学基础可能就是存在于其中的干细胞,即组织特异性干细胞。而且一般认为,在细胞更新旺盛的组织器官(如皮肤、骨髓、消化道及呼吸道等)中,其相应的组织特异性干细胞的比例可能相对较高,其增殖分化的活动也较活跃;而在那些不太旺盛的组织器官中则反之,甚至也有可能并非总是存在,而只是在某些特殊病理状态(如严重损伤)时才出现。例如,肝脏就是在严重的慢性损伤的情况下才有肝干细胞的出现^[3]。在组织器官中,干细胞存在的生物学意义在于它可以通过对称分裂或不对称分裂的方式来调节组织中干细胞库的大小和参与其组织更新或器官修复的分化细胞的来源。所谓对称分裂,是指分裂产生的两个相同的子细胞,即两个细胞都仍然是干细胞,或两个都是进入分化程序的过渡细胞(transit amplifying cell)。所谓不对称分裂,是指分裂产生的两个不同的子细胞,即一个细胞仍然是干细胞,另一个则是进入分化程序的过渡细胞。在实际情况下,分裂方式可能主要取决于其组织的生理或病理状态的需求。如果只是维持干细胞库,其干细胞就可能采取仅产生干细胞的对称分裂方式;如果需要大量的分化细胞来进行器官修复或组织更新,就可能采取仅产生过渡细胞的对称分裂方式;如果两种需求都存在时,就可以采取不对称分裂方式,同时产生干细胞和过渡细胞。相对于最终分化产生的成熟细胞来说,过渡细胞被常称为祖细胞(precursor cell)或前体细胞(progenitor cell)。从细胞系谱(lineage)分析,祖细胞是在前体细胞之上,即前者靠近于自我更新干细胞,后者靠近于成熟细胞。但也有人不做区分,而将这两个名称混用。实际上,干细胞与组织器官更新和修复的细节还并不明确,但基于组织器官中有干细胞存在和肿瘤细胞总是伴有遗传体系紊乱的事实,我们完全可以相信,它对于肿瘤干细胞以及其肿瘤的发生发展一定有着某些特殊的关联。

2 肿瘤干细胞在肿瘤组织中的存在

肿瘤组织中的细胞具有异质性的现象是肯定的,病理学上通常将其描述为分化程度的高低。以往并不太关注它们与其肿瘤发生的关联。甚至有观点认为,在肿瘤组织中的所有或绝大多数细胞都参与了肿瘤的发生。而近年来一些研究则认为,在肿瘤组织内只有极少数的特定细胞群体参与肿瘤的发

生。因为在肿瘤细胞的移植实验中发现,这一极小部分的特定细胞具有极强的成瘤能力,而且可以由此逐步地分化为其他肿瘤细胞。例如,许多移植实验都表明,只有当注射肿瘤细胞数大于 1×10^6 时才能在局部形成肿瘤;但若将表型为 $ESA^+ CD44^+ CD24^{low} Lin^-$ 的人乳腺癌细胞接种到NOD/SCID小鼠的乳腺脂肪组织中,仅接种100个细胞即可以成瘤;若将该肿瘤组织在小鼠体内进行连续传代,发现其自我更新和成瘤能力可以保持不变;而且,每个世代均可重新形成相关表型阳性和相关表型阴性的异质性细胞群体。与此同时,在体外实验中也发现,这种细胞可以长期培养,并可表达干细胞和肿瘤细胞的一些分化标志。目前所说的肿瘤干细胞,实际就是指存在于肿瘤组织中含量很低的这部分细胞。这就不难看出,肿瘤干细胞理论对于肿瘤诊断与治疗的重要性不言而喻。如果肿瘤的发生与形成依赖于其中少量的肿瘤干细胞,那么以之为靶细胞,研究其生物学特性与分子标志,无疑对肿瘤的治疗具有重要意义。

3 肿瘤干细胞的起源

从细胞分化程度的角度来看,组织中的细胞可大致地分为成熟细胞、过渡细胞和干细胞这样3类。按照一般的概念,这3类细胞都有转化为肿瘤干细胞的可能性,而且也确实有这样一些观点。但就临床上细胞更新旺盛器官(如血液、呼吸道、肠道及皮肤等)的肿瘤发生率明显高于细胞更新缓慢器官(如肌肉等)的现象,并结合目前已有的细胞生物学知识,我个人则比较倾向于是由于其组织中的干细胞发生突变的这种可能性。众所周知,在那些细胞更新旺盛的组织器官内,总是需要有持续地分化成熟细胞的供给,而这些分化成熟细胞就是来源于相应组织器官中的组织特异性干细胞。这也就是说,这些组织器官中的组织特异性干细胞总是处在一个高频率的增殖(以维持其干细胞库的动态平衡)和分化(维持组织器官结构的动态平衡)的状态。这也意味着,在这些细胞更新旺盛的组织器官中的干细胞发生突变和积累突变的可能性会很大,出现增殖特性失控的异常干细胞系(即肿瘤干细胞系)的可能性也就相应地增大。然而,存在于其组织中的成熟细胞和过渡细胞则由于增殖能力和存活寿命都比较有限,故相对于存在其组织中的干细胞来说,其突变累积到足够程度的可能性是较小的。因此,我认为肿瘤干细胞来源于其先前正常组织器官中的组织特异性干细胞的可能性较大,但也并不排斥由成熟细胞和过渡细胞转化而来或其他因素所致的可能性。

4 肿瘤干细胞的特性

早在 1875 年, Cohnheim 所提出的关于肿瘤起源的“干细胞错位”(misplaced)概念, 实际上就有当今肿瘤干细胞的涵义。然而, 肿瘤干细胞的生物学特性则在 1994 年之后才开始真正地有所认识。因为在这之后, 陆续地有了急性髓样白血病、乳腺癌、脑瘤、慢性髓系白血病及结肠癌等肿瘤干细胞的研究。目前一般认为, 肿瘤干细胞是存在于肿瘤组织中的一种具有干细胞特性的细胞, 它们可以分化为具有多种不同特性的肿瘤细胞。而且已经知道, 肿瘤干细胞在很多方面都类似于正常组织中的成体干细胞, 例如存在于肿瘤组织中的数量很少、具有自我更新能力和分化潜能、对组织的形成起决定性作用、可以表达许多与正常的组织特异性干细胞相似的分子标志、可以利用与正常的组织特异性干细胞相同的信号转导通路(Hedgehog 信号通路的阻断剂 cyclopamine 可以选择性杀伤脑肿瘤), 以及表达多种抗药性蛋白(对一些化疗药物具有抗性)等, 但还不太知道它们到底有哪些不同于正常的组织特异性干细胞的特点。所以, 关于肿瘤干细胞的生物学特性的认识仍然是一个需要深入研究的问题。在目前的研究中, 评价一种细胞是否为肿瘤干细胞的“金标准”就是异体移植实验, 即将一定数量的所要评价的细胞移植到免疫缺陷型小鼠, 以观察其是否能够成瘤。而目前比较受到关注的问题主要有: 分离培养肿瘤干细胞的技术体系、肿瘤干细胞特异性的分子标志, 以及肿瘤干细胞与正常的组织特异性干细胞和肿瘤细胞之间的区别等。可以预料, 如果能够在这些问题上的研究取得进展, 它为临床上肿瘤诊断和治疗方法的发展提供一个全新的知识体系。然而, 肿瘤干细胞的生物学特性是相当复杂的。比如 SP(side population)表型细胞和 CD133 阳性细胞与成瘤性之间的关系, 不同实验室来源的结果就可有明显的不同。所以, 这方面的认识将会有一个较长的过程。

5 值得关注的争议

肿瘤干细胞的相关研究确实取得了进展, 但质疑之声也同样存在。Shipitsin 等^[4]于 2007 年 3 月 13 日在《Cancer Cell》杂志发表文章就“肿瘤干细胞”假说提出了质疑。他们从一个乳腺癌组织标本中分离出两个遗传背景不同的细胞群, 发现这两类细胞(干细胞样祖细胞和癌细胞), 或许还有其他的, 都与乳腺癌的癌变过程有关。进而, 他们也对这

两类细胞进行全基因组扫描分析, 发现所谓的“肿瘤干细胞”与正常的干细胞很相似, 都有同样的一个分子通路激活。同年, Kelly 等^[5]将人急性粒细胞白血病(acute myelogenous leukemia, AML)细胞植入亚致死性照射的 NOD/SCID 小鼠, 发现超过 10% 的肿瘤细胞均具有显著的致瘤性, 即含有白血病起源细胞(leukemia-initiating cell, L-IC)。这一实验结果与先前的实验结果明显不同, 先前一般认为 L-IC 的比例在 1% 以下。他认为, 对于肿瘤细胞的异种移植, 肿瘤的生长取决于肿瘤细胞与其生长的微环境之间的相互作用, 而这种相互作用有赖于可溶性或是膜结合因子。很显然, 有许多小鼠因子可能无法与人相应受体结合, 反之亦然。因此, 他认为之所以只有极少数肿瘤细胞具有成瘤性, 至少部分是因为只有极少数的人类细胞能适应小鼠体内的微环境并能稳定增殖。他们也认为, 大部分肿瘤细胞不具有成瘤性, 只是它们不适应小鼠体内的微环境而未表现出致瘤性, 而并不能说它们就真正地没有成瘤性。这一观点的出现, 立即引起了多方的关注与争议。因为肿瘤干细胞理论所赖以建立的基础, 就在于肿瘤组织中的不同类型细胞的成瘤能力有显著不同。如果抽掉了这块基石, 肿瘤干细胞的概念体系就无疑地受到了挑战或动摇。然而, 在 2008 年 4 月份《Science》的专题讨论中, Kennedy 等^[6]针对 Kelly 的观点提出了不同的看法。他们认为, 先前大量的实验结果, 包括 Kennedy 等^[6]的研究, 无论同种或异种移植, 都表明在血液肿瘤细胞内部存在 L-IC, 而在不同肿瘤中的比例则有明显的差异, 范围可以从 0.001% 至 1%。这种比例上的差异可能是由于肿瘤干细胞在肿瘤内的比例不同所造成的。对于这样的争论, 应该说其意义并不仅仅在于 L-IC 的比例, 还在于如何看待肿瘤干细胞这个概念, 以及如何看待肿瘤干细胞与正常组织干细胞之间的关系。如果认为肿瘤干细胞来源于正常的组织特异性干细胞, 并呈现组织干细胞的功能特征, 那么可以推论肿瘤组织内应存在极少量的肿瘤干细胞, 而且其肿瘤组织就应该是由肿瘤干细胞分化而来。如此真是这样的话, 肿瘤内部就必然存在由于干细胞分化而形成的有序的差异性。最近, 美国癌症研究协会召集干细胞领域的专家讨论关于肿瘤干细胞的问题, 他们认为: 所谓“肿瘤干细胞”, 并非指其起源于正常组织干细胞, 而是指这种细胞具有肿瘤形成能力, 并表现出干细胞的某些功能特征, 如自我更新的能力。此外, 这种细胞在肿瘤细胞的异质性中处于“塔尖”的位置, 它能进一步“分化”形成其他肿瘤细胞^[7]。如

果按照这一观点,肿瘤组织中的细胞就可按分化程度的高低被想象为一个塔形,所谓的“肿瘤干细胞”可能就位于其“塔尖”的位置,而且它可以不断地增殖与分化,由此可产生一系列的、其分化程度越来越高的过渡细胞。如果确实是这样,这似乎就解释了肿瘤内部的异质性。

实际上,关于肿瘤干细胞的争议是不少的,而且有可能会越来越多。我个人认为,这些争议对于肿瘤干细胞生物学特性的认识以及其基本知识体系的形成,应该说是非常有意义,确实值得关注或参与。

[参 考 文 献]

- [1] Shipitsin M, Polyak K. The cancer stem cell hypothesis in search of definitions, markers, and relevance[J]. *Lab Invest*, 2008, 88(5): 459-463.
- [2] 胡以平. 干细胞: 生物医药研究的新靶标[J]. *第二军医大学学报*, 2002, 23(11): 1161-1165.

- [3] Li WL, Su J, Yao YC, *et al.* Isolation and characterization of bipotent liver progenitor cells from adult mouse[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(2): 322-332.
- [4] Shipitsin M, Campbell LL, Argani P, *et al.* Molecular definition of breast tumor heterogeneity[J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(3): 259-273.
- [5] 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.
- [6] Kennedy JA, Barabé F, Poepl AG, *et al.* Comment on " tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells" [J]. *Science*, 2007, 318(5857): 1722.
- [7] 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.

[收稿日期] 2008 - 04 - 28

[修回日期] 2008 - 05 - 15

[本文编辑] 郁晓路

“2006 年中国百篇最具影响优秀国际学术论文”之一介绍

——本期述评作者优秀论文摘要

Isolation and characterization of bipotent liver progenitor cells from adult mouse

Wen-Lin Li^a, Juan Su^a, Yu-Cheng Yao^a, Xin-Rong Tao^a, Yong-Bi Yan^a, Hong-Yu Yu^b, Xin-Min Wang^a, Jian-Xiu Li^a, Yong-Ji Yang^a, Joseph T. Y. Lau^c, Yi-Ping Hu^{**} (a. Department of Cell Biology, Second Military Medical University, Shanghai, People's Republic of China; b. Department of Pathology, ChangZheng Hospital, Shanghai, People's Republic of China; c. Department of Molecular and Cellular Biology, Roswell Park Cancer Institute, Buffalo, New York, USA)

ABSTRACT: Liver progenitor cells have drawn a great deal of attention both for their therapeutic potential and for their usefulness in exploring the molecular events surrounding liver development and regeneration. Despite the intensive studies on liver progenitors from rats, equivalent progenitor cells derived from mice are relatively rare. We used retorsine treatment followed by partial hepatectomy to elicit liver progenitors in mice. From these animals showing prominent ductular reactions, mouse-derived liver progenitor cell lines (LEPCs) were isolated by single-cell cloning. Phenotypic and lineage profiling of the LEPC clones were performed using immunohistochemistry, reverse transcription-polymerase chain reaction, and a dual-color system comprising the reporter EGFP under the control of the cytokeratin 19 promoter and the DsRed reporter under the control of the albumin promoter. LEPCs expressed liver progenitor cell markers. LEPCs also expressed some markers shared by bone marrow-derived hematopoietic stem cells c-Kit and Thy-1 but not CD34 and CD45. When cultured as aggregates in Matrigel, LEPCs differentiated into hepatocyte upon treatment with 50 ng/ml epithelial growth factor or differentiated into biliary lineage cells upon treatment with 20 ng/ml hepatocyte growth factor. In the presence of 2% dimethyl sulfoxide and 2% Matrigel, LEPCs acquired predominantly bile lineage phenotypes, with occasional patches of cells exhibiting hepatocyte phenotypes. Upon transplantation into CCl₄-injured-liver, LEPCs engrafted into liver parenchyma and differentiated into hepatocytes. Considering the amenability of the mouse to genetic manipulation, these mouse-derived LEPCs may be useful tools as in vitro models to study molecular events in liver development and regeneration and can shed light in studying the therapy potential of liver stem cells.

KEY WORD: liver progenitor cell; stem cell; differentiation; liver regeneration

* Correspondence author: Yi-Ping Hu

Stem Cells, 2006, 24(2): 322-332.