

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.06.001

· 专家论坛 ·

## 肿瘤转移干细胞与抗转移策略

邓永键, 丁彦青(南方医科大学 南方医院 病理科, 南方医科大学 基础医学院 病理学系, 广州 510515)



丁彦青, 教授、主任医师、博士生导师, 国务院学位委员会学科评议组成员、国家级及广东省教学名师、国务院特殊津贴享受者、中国科协优秀科技工作者、广东省突出贡献医学专家、广东省丁颖科技奖获得者、全军教育金奖获得者、肿瘤病理学专家、国家自然科学基金评审专家、归国人员科学基金及广东省科技成果评审专家。现任南方医科大学基础医学院病理学系主任兼南方医科大学南方医院病理科主任、广东省“分子肿瘤病理学”重点实验室主任, 中国病理医师协会副会长、中国病理学工作者委员会副主任委员、中国抗癌协会肿瘤转移专业委员会副主任委员、广东省病理医师协会主任委员、中华医学会广东省病理学会副主任委员、中华医学会病理学专业委员会委员、国家精品课程负责人。《诊断病理学杂志》副总编辑,《中华病理学杂志》、《中华神经医学杂志》、《中国肺癌杂志》、《现代消化病及介入杂志》、《南方医科大学学报》常务编委及编委, *Lancet*、*Am J Nephrol*、*J Clinical Pathol*、*J Transl Med*、*Cell Biol Int* 等国际著名杂志特邀审稿专家。2001年以来主持及完成国家级、省部级研究课题 18 项, 其中国家“863”课题、“973”分课题、国际合作、国家自然科学基金共 10 项。发表相关论文 200 余篇(其中 SCI 收录论文 30 余篇, 包括 *N Eng J Med*、*J Pathol*、*Neoplasia*、*J Proteome Res* 等), 主编、副主编及参编专著 20 部; 获国家级及省部级科技进步一、二等奖 7 项(署名均为第 1、2); 培养和招收博士后、博士及硕士研究生 103 名。已毕业的研究生中 10 人为学科学术带头人, 5 人被评为南粤优秀研究生, 2 人获广东省优秀博士论文和全国优秀博士论文提名奖, 1 人被评为珠江学者、新世纪“千百十工程”国家级人选, 并获国家杰出青年基金。E-mail: dyq@fimmu.com

[摘要] 肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)能自我更新, 分化形成异质性的肿瘤子代细胞群, 是肿瘤复发与转移的主要原因。肿瘤转移干细胞(metastatic cancer stem cell, MCSC)具有 CSC 特性, 同时伴有转移能力。肿瘤转移既发生于肿瘤晚期, 也发生于早期。MCSC 在起源、上皮-间质转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、间质-上皮转变(mesenchymal-epithelial transition, MET)和靶器官小生境(niche)等方面与 CSC 不同, 因而 MCSC 是肿瘤转移的基础。杀灭 CSC、阻断 EMT 和 MET、抑制 MCSC 微血管黏附和阻断 MCSC 依赖的小生境可构建抗肿瘤转移的治疗策略。本文主要介绍 MCSC 的可能来源, MCSC 的生物学特性, MCSC 近期研究中可能取得的突破, 以及针对 MCSC 的抗转移策略, 为肿瘤转移机制研究和抗转移研究提供参考。

[关键词] 肿瘤干细胞; 转移; 肿瘤转移干细胞; 抗转移治疗

[中图分类号] R730.2; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)06-0547-10

## Metastatic cancer stem cells and anti-metastasis strategies

DENG Yong-jian, DING Yan-qing (Department of Pathology, Southern Hospital of Southern Medical University & Department of Pathology, Basical Medical College of Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China)

[Abstract] Cancer stem cells (CSC) are capable of self-renewal and can proliferate into a heterogeneous bulk with cancer progeny population, which is the main reason for recurrence and metastasis of cancer. Metastatic cancer stem cells (MCSC) have the properties of CSC and the ability of metastasis. Metastasis happens at both the late and early stages of tumorigenesis. MCSC are different from CSC in origin, epithelial-mesenchymal transition (EMT), mesenchymal-epithelial transition (MET), and microenvironment of target organs (niche), etc. Therefore, MCSC is the foundation of cancer metastasis. Anti-metastasis strategies include killing CSC, blocking EMT and MET of CSC, inhibiting MCSC adhesion to microvessels, and destroying MCSC dependent-niche. This review introduces the possible sources, biological features of MCSC, the possible breakthrough in MCSC research, and MCSC-targeted anti-metastasis strategy, hoping to provide reference

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30170423, 30370649, 30670968, 30670967, 30770977, 30971361); 广州市科技计划基金资助项目(No. 2007Z3-E4011)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30170423, 30370649, 30670968, 30670967, 30770977, 30971361); the Municipal Programs of Guangzhou for Science and Technology Development (No. 2007Z3-E4011)

for researches about tumor metastasis mechanisms and anti-metastasis strategies.

[ **Key words** ] cancer stem cell; metastasis; metastatic cancer stem cell; anti-metastatic therapy

[ Chin J Cancer Biother, 2009, 16(6): 547-556 ]

肿瘤转移是一个复杂的、多步骤的阶段演变过程。肿瘤细胞要完成转移过程, 必须经历从原发瘤中脱落、进入血管和(或)淋巴管、在循环中生存、黏附于继发器官微血管、渗出血管和(或)淋巴管、进入继发器官组织、形成微转移瘤并诱发血管发生, 最终形成转移瘤, 任一环节的中断均不能形成转移瘤。事实上, 90% 的转移细胞能够完成转移过程早期的一个或多个步骤, 约 2% 的肿瘤细胞能够形成微转移瘤, 而仅有约 0.2% 的肿瘤细胞能够有效诱发血管生成最终形成转移瘤<sup>[1]</sup>。尽管肿瘤外科切除、放疗、化疗和生物治疗已经挽救了大部分肿瘤患者的生命, 但在美国还有 40% 的患者因肿瘤而死亡<sup>[2]</sup>, 肿瘤复发与转移是患者死亡的主要原因。

肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)与肿瘤发生、复发和转移的关系极为密切<sup>[3,4]</sup>。干细胞具有分裂的不对称性、可塑性, 能被诱导分化, 其生物学特性已基本明确。CSC 与正常干细胞生物学特性类似<sup>[4,5]</sup>, 通过不对称分裂方式进行扩增与分化, 可表达正常干细胞类似的标志物。随着白血病干细胞的确认<sup>[6]</sup>, 一系列实体瘤 CSC 得已发现, 如乳腺癌<sup>[7]</sup>、肺癌<sup>[8]</sup>、前列腺癌<sup>[9]</sup>、恶性黑色素瘤<sup>[10]</sup>、大肠癌<sup>[11-12]</sup>、肝癌<sup>[13]</sup>及脑肿瘤 CSC<sup>[14-15]</sup>等, 现今人体器官发生的各种恶性肿瘤, 基本上已分离与鉴定出相应 CSC。

肿瘤转移干细胞(metastatic cancer stem cell, MCSC)生物学特性可能与 CSC 类似, 它与 CSC 的区别在于其具有形成转移瘤能力。MCSC 的分离和鉴定、分子标签的确定及生物学特性的研究有助于阐述肿瘤的转移机制与抗转移治疗。

### 1 肿瘤干细胞

白血病干细胞是最早被确认的一种 CSC。急性髓细胞白血病患者外周血中 CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> 细胞 SCID 小鼠实验性移植能够复制出白血病状态<sup>[6]</sup>, 并由这些细胞进行自我更新与分化为各阶段的白血病子代细胞, 包括肿瘤祖细胞与成熟肿瘤细胞<sup>[16]</sup>, 即 CSC 的层级结构。按照肿瘤的层级结构理论, CSC 处于肿瘤细胞群的顶端, 具有自我更新与分化能力, 通过不对称分裂产生 CSC 和进入分化阶段的祖细胞, 既保存干细胞池, 又分化增生形成异质性肿瘤细胞群; 肿瘤祖细胞则主要通过对称分裂产生后续阶段肿瘤子代细胞, 并最终分化为成熟肿瘤细胞; 成熟

肿瘤细胞不具有分裂能力, 最终凋亡。肿瘤就是由 CSC、祖细胞、各阶段子代肿瘤细胞和成熟肿瘤细胞组成的异质性细胞群(图 1)。

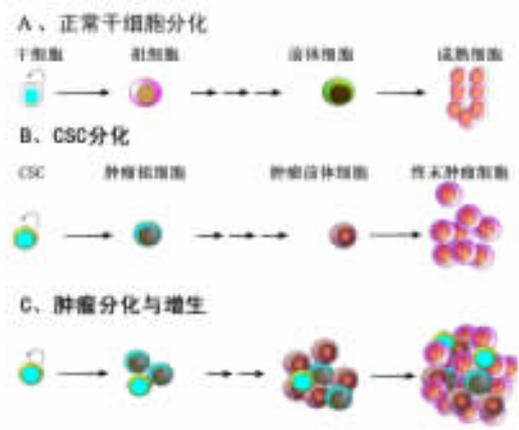


图 1 肿瘤干细胞(CSC)的分化、增生模式

Fig. 1 Schematic diagram of differentiation and proliferation of cancer stem cells

The tumor bulk is a heterogeneous cell populations consisting of cancer stem cells, cancer progenitor cells, cancer precursor cells and mature cancer cells.

对于实体瘤干细胞的研究同样发现了 CSC 的分子表达特征。Al-Hajj 等<sup>[7]</sup>通过特异性的细胞表面标志分离纯化出乳腺癌 CSC, 这种细胞以 Lin-ESA<sup>+</sup> CD44<sup>+</sup> CD24<sup>-low</sup> 为特异性细胞表面标志。此类细胞在 NOD/SCID 裸鼠移植后具有干细胞样生长特性, 能够无限增殖, 并分化产生乳腺癌细胞。Lin-ESA<sup>+</sup> CD44<sup>+</sup> CD24<sup>-low</sup> 乳腺癌细胞的致瘤能力是未纯化癌细胞致瘤能力的 50 倍, 前者只需 100 个细胞移植即可在裸鼠乳腺中形成肿瘤, 同样情况下, 后者则不能形成肿瘤, 而且仅 Lin-ESA<sup>+</sup> CD44<sup>+</sup> CD24<sup>-low</sup> 细胞具有致瘤源性, 从而确认 Lin-ESA<sup>+</sup> CD44<sup>+</sup> CD24<sup>-low</sup> 乳腺癌细胞为乳腺癌 CSC。Al-Hajj 的研究建立了 CSC 的研究模式, 后续鉴定的其他实体瘤 CSC 均采用了类似方法<sup>[8-9, 11-12, 14, 17-18]</sup>, 即从肿瘤细胞群中分离出特定细胞亚群, 在体外与活体动物模型上研究这些细胞是否具有自我更新能力, 能否在免疫缺陷动物体内模拟干细胞的分化过程, 如果少量细胞(通常为 1 × 10<sup>2</sup> ~ 1 × 10<sup>3</sup> 个细胞)植入裸鼠, 能够分化演变为完整的恶性肿瘤并具有与原发肿瘤

类似的组织学特点,就可确认该群细胞为 CSC,这种方式已被公认为鉴定 CSC 的金标准<sup>[19]</sup>。

实体瘤 CSC 的分离与鉴定进一步支持了肿瘤层级结构理论<sup>[5]</sup>,并且 CSC 的含量与肿瘤的预后有关。大肠癌 CSC 被认为是 CD133<sup>+</sup> 的肿瘤细胞,大肠癌组织 CSC 表达量增高,患者预后差<sup>[20-21]</sup>;高表达 CD44<sup>+</sup> CD24<sup>-</sup> 的早期乳腺癌患者预后不良<sup>[22]</sup>。按照肿瘤层级结构理论,CSC 在肿瘤细胞团中含量稀少,约占肿瘤细胞的 0.01%~1%,细胞形态特征与其他肿瘤细胞差别不明显,细胞标志物未完全确定,分离困难,因此对 CSC 应进行严格定义和建立公认的鉴定标准。CSC 已被定义为:在肿瘤内具有自我更新能力,能够产生肿瘤谱系异质性的肿瘤细胞<sup>[19]</sup>。

自从 CSC 在白血病与多种实体瘤中被分离与鉴定,CSC 已成为肿瘤生物学研究的热点,广泛应用于肿瘤组织内 CSC 与非 CSC 的恶性行为差异研究,如增生、黏附、侵袭、转移、耐药性、抗凋亡等相关特性。MCSC 的分离与鉴定是 CSC 研究的重要内容,它有利于区别肿瘤来源组织的正常干细胞和 CSC,区别 CSC 与 MCSC 的转移特征。

## 2 肿瘤转移干细胞

### 2.1 MCSC 研究的必要性

按常理推测,MCSC 是 CSC 的一种亚型,生物学特征应该与 CSC 无明显差异,明确 CSC 生物学特征,就能正确理解 MCSC 的生物学行为。但是,随着 CSC 研究的深入,发现 CSC 就如肿瘤细胞群一样,具有明显的异质性,也就是同一肿瘤组织中,即使 CSC 均具有自我更新与分化能力,不同 CSC 的生物学行为存在差异。也可以认为,CSC 可分为增生、黏附、耐药、侵袭和转移行为不同的细胞亚群,因而 MCSC 生物学特征的研究具有必要性。

正常细胞的转化可发生于不同阶段,在干细胞水平的转化、祖细胞水平的转化与成熟阶段的转化而产生的肿瘤细胞,其生物学特性显然具有差异。同样,即使是在干细胞水平产生的肿瘤细胞,细胞生物学特性差异亦存在。CSC 的异质性可表现在肿瘤转移、药物反应性、免疫原性等多个方面,患者的临床过程、预后与治疗转归不同<sup>[23]</sup>。在正常干细胞与祖细胞水平产生的肿瘤细胞,其转化、转移潜能可能高于成熟细胞去分化而产生的肿瘤细胞<sup>[24]</sup>。

CSC 的异质性是由基因表达差异决定的<sup>[25-26]</sup>。乳腺癌遗传易感基因 BRCA1 敲除后诱导的小鼠乳腺癌,不同肿瘤团块中分离的 CSC 分子表型不同<sup>[27-28]</sup>。也有作者发现 CD133<sup>+</sup> 与 CD133<sup>-</sup> 的大肠

癌细胞<sup>[29]</sup>和肺癌细胞<sup>[30]</sup>均具有 CSC 特性,而 CD133<sup>+</sup> 的卵巢癌 CSC 有利于促进肿瘤的血管发生<sup>[31]</sup>。CSC 的分子表型不同,肿瘤的生物行为差异明显<sup>[32-33]</sup>。由于同一肿瘤中 CSC 分子表型不同,期望通过一二种分子靶标来杀灭 CSC,达到使用群司珠单抗( trastuzumab, 又名赫赛汀)治疗乳腺癌的类似效果是难以实现的<sup>[34]</sup>。另一方面,如果原发瘤中 CSC 已被完全移除(如外科手术切除),存留于机体内的可能是 CSC 或 MCSC,如果仅通过抗 CSC 治疗的方案来抑制或杀灭 CSC,能否达到抑制肿瘤转移的目的? 在 MCSC 的生物学特征仍未弄清之前,肿瘤学家们无法回答这一问题。

### 2.2 MCSC 存在的基础和鉴定

肿瘤发生后出现逐渐演变,肿瘤的侵袭与转移能力增强。按照肿瘤层级结构理论,肿瘤的侵袭性和转移能力增强应该是 CSC 的演变结果。干细胞正常情况下处于 G<sub>0</sub> 期,呈休眠状态。不对称分裂使一个干细胞进入增殖分化,另一干细胞成为 G<sub>0</sub> 期的自我储备细胞。CSC 亦具有同样特征,因此杀灭增殖阶段的肿瘤治疗策略无效,可以认为 CSC 是天然的放、化疗抵抗细胞<sup>[35-36]</sup>。CSC 的放、化疗的抵抗性可能是 CSC 适应环境逐渐演变的结果<sup>[37-38]</sup>(如 A23187 可以诱导肺癌细胞系高表达 GRP78 和 GRP94 的抗 VP-16 的 CSC<sup>[39]</sup>),也是肿瘤转移的源泉。

外科手术根治性扩大切除恶性肿瘤组织,理论上来说局部肿瘤细胞与 CSC 已被移除,然而大部分患者在手术治疗后数年内复发与转移。肿瘤复发与转移在治疗后较长一段时间内才被发现,一方面是由于现代医疗手段的局限,需待肿瘤团块增长到一定大小才能被确定;另一方面是在肿瘤治疗的同时,循环系统中已经存在了微转移 CSC<sup>[13, 40-41]</sup>,这部分 CSC 在适应了后续的化疗药物、机体环境、器官微环境后才能增殖形成肿瘤,导致远隔器官转移<sup>[38]</sup>,且微转移 CSC 具有独特的分子病理特征<sup>[25-26]</sup>,这不能不认为 MCSC 是 CSC 演变的结果。

肿瘤团块起源于一个 CSC,肿瘤团块增长到一定大小后,再依赖于一个 CSC 来维持细胞的足够增殖似乎是不可能的,因此 CSC 演变到一定时候,必然需要扩大 CSC 细胞池,否则肿瘤团块就会生长静止或自行退缩<sup>[42-44]</sup>。通常认为干细胞只具有不对称分裂,单一干细胞自我更新只产生储备干细胞和进入分化阶段的祖细胞,并不能使干细胞总数增加。机体形成的多个转移瘤,每一个转移病灶至少具备一个 CSC,意味着 CSC 数量的增加,那么增加的 CSC 又是从哪里来的? 目前推测,肿瘤发生时可能同时

产生多个 CSC, 或者肿瘤发生后, 还持续产生新的 CSC, 由此出现不同生物学特性的 CSC, MCSC 就是其中一个亚群<sup>[5, 45]</sup>; 也有可能 CSC 产生对称分裂, CSC 扩增, 后续部分 CSC 演变为 MCSC, 但是 CSC 的对称分裂方式仍未证实。

Hermann 等<sup>[46]</sup>应用 CD133 标记, 从胰腺癌肿瘤组织中分离 CD133<sup>+</sup> 的肿瘤细胞, 这些细胞具有 CSC 特征, 在加入 EGF、FGF2 的无血清培养液中进行体外增殖而不分化, 植入裸鼠分化为与原发瘤类似的胰腺癌组织, 因而认为 CD133<sup>+</sup> 的胰腺癌细胞为 CSC。CD133<sup>+</sup> 胰腺癌干细胞又分为 2 个亚群, CD133<sup>+</sup> CXCR4<sup>+</sup> 的肿瘤细胞裸鼠胰腺原位移植后具有肝转移能力, 但 CD133<sup>+</sup> CXCR4<sup>-</sup> 的肿瘤细胞只具有成瘤能力, 不发生肝内转移, 从而确认 CD133<sup>+</sup> CXCR4<sup>+</sup> 细胞为胰腺癌 MCSC<sup>[46]</sup>。临床病例的研究也提示 CD133<sup>+</sup> 胰腺癌细胞的存在与淋巴结转移相关<sup>[47]</sup>。乳腺癌细胞系的研究中也发现了具有转移潜能相关的 CSC 亚群及其特征性的分子标签<sup>[48]</sup>。Shmelkov 等<sup>[29]</sup>在转移性大肠癌组织分离的 CD44<sup>-</sup> CD133<sup>+</sup> 大肠癌细胞不具有 CSC 特性, CD44<sup>+</sup> CD133<sup>-</sup> 大肠癌细胞具有 CSC 特性, CD44<sup>+</sup> CD133<sup>+</sup> 更易产生侵袭性强的 CD133<sup>-</sup> 肿瘤细胞, 因而有学者<sup>[21, 49]</sup>认为 CD133 是大肠癌 MCSC 标志物之一。胰腺癌 MCSC 的确定为其他肿瘤 MCSC 的研究起了先导作用, 在抗肿瘤转移方面开辟了新领域<sup>[45, 50]</sup>。

MCSC 从理论上推测是 CSC 的亚群<sup>[45]</sup>, 因而具有 CSC 的特征, 不但能进行不对称分裂、自我更新、分化, 而且能分化出具有转移潜能的肿瘤细胞。可应用 CSC 研究模式对其他组织来源的 MCSC 进行鉴定与生物学特性的研究。如果能够在其他肿瘤组织分离和鉴定出 MCSC 的存在, 就能明确 MCSC 的普遍性, 由此建立新型抗肿瘤转移的治疗策略。

### 2.3 MCSC 的来源

一般认为, CSC 来源于正常干细胞或祖细胞的累积突变后转化, 那么 MCSC 来源有 3 种可能: 与 CSC 同时起源; CSC 在原发瘤中逐渐演变产生 MCSC; CSC 进入循环后演变为 MCSC。

O'Brien 等<sup>[12]</sup>使用 CD133 从大肠癌原发瘤和肝转移大肠癌分离 CD133<sup>+</sup> CK20<sup>-</sup> CDX2<sup>-/low</sup> 的大肠癌细胞具有 CSC 特性, 说明无论原发瘤还是转移瘤, 癌组织中均存在 CSC, 然而此研究中大肠癌原发瘤与转移瘤来源于不同患者, 也没有对转移瘤中 CSC 与原发瘤中 CSC 之间的生物学行为差异进行比较, 不能说明大肠癌 MCSC 一开始就存在于原发瘤组织或来源于原发瘤 CSC 的演变。

上皮-间质转变 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 被认为是肿瘤转移过程中出现的动态演变<sup>[51]</sup>, 癌细胞发生转移时上皮性标记物如上皮性钙黏蛋白 (E-cadherin) 表达降低, 而间质表达标记物如纤维黏连蛋白 (fibronectin) 表达增高。EMT 使癌细胞进入微血管与淋巴管。癌细胞进入循环中又出现间质-上皮转变 (mesenchymal-epithelial transition, MET), 转化为上皮细胞。当癌细胞要渗出靶器官微血管, 又出现 EMT, 进入靶器官中为了适应靶器官微环境, 出现 MET 才能产生转移瘤, EMT 与 MET 在癌细胞转移过程中交替发生, 完成转移过程<sup>[52]</sup>。原发瘤组织内的癌细胞进入间质中, 出现间质细胞表达特性, 且同时表达 CSC 标志物, 提示原发瘤组织中存在 MCSC, 但是要把 MCSC 原发瘤中使用特异标记物分离出来尚不能实现。癌细胞转移过程出现的 EMT, 已在多种癌组织的原发瘤周围观察到这种现象<sup>[53]</sup>。进入循环中的癌细胞亦可出现 EMT, 具有 CSC 特性<sup>[54]</sup>。可以将原发瘤分为局部增殖与具有 EMT 特性的 2 个亚群, 后者具有转移潜能, 因而推测 MCSC 是原发瘤内 CSC 逐渐演变形成的 (图 2)。

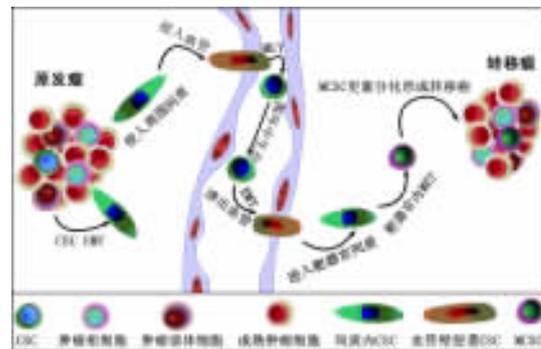


图 2 原发瘤内 MCSC 的演变模式  
Fig.2 Schematic diagram of development of MCSC in primary tumor

CSC displays EMT and MET transition, it invades into extracellular matrix of tumors, the angiolymphatic vessels, extravasating into target organ's interstitium, and then the CSC transits into MCSC and finally differentiates into secondary metastatic tumors. MCSC is differentiated from CSC in the primary tumor because the migrating CSC has changed their biological features during metastatic expedition

肿瘤细胞转移过程中 EMT 与 MET 的交替发生, 是由多种信号通路精细调节完成的。Wnt、Snail 和 Slug 等信号通路起重要作用, 其中 Snail 信号通路还参与调节机体的免疫抑制, 有利于黑素瘤的转移<sup>[55]</sup>。如果肿瘤细胞仅具有 EMT 功能而缺乏 MET

属性,则能使肿瘤细胞局部扩展、蔓延,甚至进入循环中形成肿瘤细胞栓,但不能完成转移过程;阻断肿瘤细胞的 MET 过程,能有效抑制乳腺癌的浸润与转移<sup>[56]</sup>。如果肿瘤细胞有效进入循环内,并具有 MET 特性,才可使肿瘤细胞完成转移过程,因而 MET 可能是原发癌中的一部分 CSC 就具有的特性,或者是进入循环中才产生的该特性<sup>[57]</sup>。故此推测,MCSC 既可能是原发癌 CSC 演变的结果,也可能是 CSC 进入循环后演变的结果。CSC 在肿瘤原发部位演变为 MCSC,或者 CSC 进入循环后演变为 CSC,需要 CSC 改变相关信号通路以适应周围环境因素,并且需要适应靶器官微环境,是一个漫长过程,这与临床恶性肿瘤转移发生于肿瘤晚期相一致。

如果认为 MCSC 来源于 CSC 的演变,就不能否认肿瘤起源时就可能出现 MCSC,临床上确实有少量肿瘤患者在肿瘤确诊时发现的是转移瘤,经各种临床检查均不能发现原发瘤,说明肿瘤转移也是一种早发事件<sup>[22, 58-59]</sup>,提示肿瘤发生时产生的 CSC 就可能是 MCSC 或很快演变为 MCSC,进入循环内并在靶器官内形成转移瘤,原发器官不一定形成肿瘤。因此,确定 MCSC 的来源与其生物学特性有利于人类对肿瘤转移机制的再认识。

#### 2.4 MCSC 与小生境

干细胞的周围细胞及相互作用的细胞因子共同构成微环境,称为干细胞 niche。Niche 中文翻译尚未统一,译为“小生境”、“龕”或“微环境”。微环境可指一种器官内区别于机体其他器官的特有环境,而干细胞 niche 是一种组织结构与功能单位,因而我们认为译为“小生境”较为合理。小生境在组织结构上类似半封闭的凹形空间,干细胞居住于此空间中心,周围的小生境细胞、细胞外基质及细胞因子决定干细胞的命运,维持干细胞的自我更新和避免分化<sup>[60]</sup>。小生境处于动态平衡状态,不同器官干细胞小生境不同,如造血干细胞的小生境细胞为梭形的 N-cad<sup>+</sup> CD45<sup>-</sup> 的成骨样细胞<sup>[61]</sup>,胃肠黏膜上皮固有层内的成肌纤维细胞可能为胃肠干细胞的小生境细胞<sup>[62]</sup>。组织结构改变和信号通路变化使干细胞的增殖、自我更新和分化产生改变,甚至导致正常干细胞向 CSC 转化<sup>[60]</sup>。CSC 小生境与正常干细胞小生境类似,由间质支持细胞(非肿瘤细胞)、细胞外基质、可溶性细胞因子、血管网、营养与代谢产物等组成,且屏蔽了免疫细胞与炎症细胞对 CSC 的损伤。CSC 细胞与小生境中信号相互影响,形成信号通路的相互对话,CSC 可改变小生境,小生境亦使 CSC 细胞生物学特性改变。

干细胞小生境的改变可导致 CSC 的产生,小鼠乳腺基质成纤维细胞的 *Pten* 基因灭活后,出现乳腺上皮细胞的肿瘤转化、上皮增生并进展为乳腺癌,有利于 *Ets2* 基因产物的聚集而促进乳腺上皮增生和转化,人类乳腺癌基质中亦筛选出 *Pten* 基因标签<sup>[63]</sup>。推测在原发癌组织因小生境的改变而使 CSC 出现转移特性<sup>[64]</sup>,导致 MCSC 的形成。根据 MCSC 的渐进性演变原则,CSC 出现 MCSC 转化,小生境应产生相应改变。

MCSC 到达靶器官后,需适应靶器官微环境,并进入靶器官小生境中才能使 MCSC 增殖、分化产生转移瘤。肿瘤转移小生境可能在靶器官内预先形成,或在 MCSC 到达靶器官后 MCSC 与周围间质相互诱导而形成转移小生境。

靶器官内先于肿瘤细胞到达之前形成的预转移微环境已被认识,通常认为预转移环境的形成与骨髓造血祖细胞有关<sup>[65-66]</sup>。VEGFR1 阳性的骨髓前体细胞定植于小鼠肺组织,黑色素瘤 B16 细胞的小鼠肺转移率增高,说明骨髓前体细胞在靶器官内构建了有利于肿瘤转移的微环境<sup>[66]</sup>。乳腺癌肿瘤组织内的成纤维细胞通过分泌 SDF-1(基质源性因子 1),诱导骨髓源性血管内皮祖细胞的聚集,促进血管的发生,有利于 CXCR4<sup>+</sup> 乳腺癌细胞的浸润<sup>[67]</sup>。

MCSC 与靶器官间质相互作用,逐渐形成适合 MCSC 分化增生的小生境。从理论上推测,靶器官微环境的适应性是 MCSC 形成转移瘤之前必须经历的过程。肿瘤细胞进入循环系统中,由于肿瘤细胞体积大于血细胞,容易滞留于毛细血管末端形成微转移瘤细胞栓,瘤细胞分泌细胞因子,或受靶器官环境影响而产生新的细胞因子,诱导靶器官内形成 MCSC 的小生境,使 MCSC 增殖、分化形成转移瘤。乳腺癌患者在确诊时即使已发现骨髓中微转移瘤细胞,但只有 50% 的患者 5 年后出现临床转移<sup>[68]</sup>,说明转移瘤细胞须驯育周围环境才能使之产生适合于转移瘤细胞生长的微环境。由于 MCSC 仍未从大多数肿瘤中分离与鉴定,因而 MCSC 诱导器官形成转移小生境的证据尚未展现。

### 3 针对转移干细胞的抗转移策略

外科手术、放疗、化疗和生物靶向治疗是肿瘤治疗的主要策略,虽然这些治疗均可使肿瘤在近期内缩小或移除,但是仍有一部分患者因肿瘤复发与转移而死亡,即使肿瘤原发灶已被消除。在肿瘤被确诊时,循环系统内存留的瘤细胞是肿瘤复发与转移的重要原因,如成神经细胞瘤患者在确诊时出现体

内瘤细胞残留提示预后不良<sup>[69]</sup>; 约 30% 的乳腺癌患者在确诊同时发现骨髓内微转移瘤细胞, 其中有一半患者在 5 年后出现临床转移<sup>[68]</sup>。循环中 MCSC 是形成肿瘤转移的基础<sup>[13, 41, 54]</sup>。由于 CSC 通过不对称分裂进行自我更新, 其处于 G<sub>0</sub> 期, 相当于休眠状态, 增殖与分裂活性不明显; 现今的放、化疗措施只能杀灭处于增殖活跃阶段的肿瘤子代细胞, 不能有效杀灭 CSC, 残留的 CSC 使肿瘤复发与转移, 导致治疗失败<sup>[5]</sup>(图 3)。

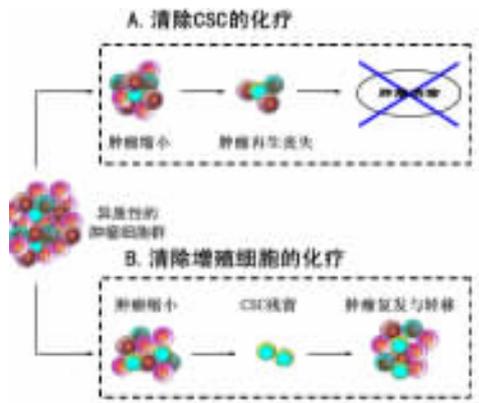


图 3 两种化疗策略产生不同的治疗效果

Fig. 3 Different therapeutic effects of two chemotherapy strategies

The tumor mass is composed of heterogeneous cancer cells. Ideal chemotherapy strategy eliminates tumor by killing all CSCs and progeny cancer cells (A). The present chemotherapy strategy kills only the proliferating cancer cells without eliminating CSC, thus may lead to relapse and metastasis of cancer (B)

CSC 的发现使人类重新审视肿瘤治疗方案, 根除 CSC 期望完全治愈肿瘤。多年来人们一直在试图建立有效的抗肿瘤转移策略, 由于 MCSC 与 CSC 存在生物学差异, 如果不能根除 MCSC, 就不能达到抗肿瘤转移的目标。因此, 建立有效的抗 MCSC 治疗方案, 杀灭 MCSC, 也是肿瘤治疗研究中的重大课题。针对 MCSC 的治疗策略可能有以下 4 个方案。

### 3.1 杀灭或抑制肿瘤干细胞

MCSC 是具有转移潜能的 CSC, 杀灭 CSC 同时应该具有抗肿瘤转移功效。制备针对 CSC 的单克隆抗体, 同时可在抗体上螯合化疗药物或放射性物质, 使之能够特异性杀灭 CSC。实现这一方案须寻找 CSC 的特异性标记物, 且标记物应在细胞膜上表达, 才能识别 CSC 和使靶向治疗药物进入 CSC, 避免伤及正常细胞和正常干细胞。CD133 在胶质瘤、大肠癌、肺癌、胰腺癌、黑色素瘤、前列腺癌等 CSC 中表达, 且位于细胞膜表面。CD133 封闭的黑素瘤 CSC 肿瘤增殖减慢,

转移能力降低<sup>[70]</sup>, 因而 CD133 似乎可以成为多种肿瘤 CSC 治疗的靶标<sup>[71]</sup>。但是, CD133 同样表达于正常造血干细胞、前列腺干细胞和肠上皮干细胞等, 使用 CD133 进行靶向治疗能否避免对这些正常干细胞的损伤, 需在动物实验与临床研究中进行核实<sup>[71]</sup>。其他 CSC 细胞表面标记物也发现不是 CSC 所特有的, 在多种正常细胞与正常干细胞中也表达, 使用这些标记物进行靶向治疗同样需避免对正常细胞的影响。另外, 现今发现的 CSC 表面标记物, 不一定是该肿瘤 CSC 的唯一标志, 如 CD133<sup>+</sup> 和 CD133<sup>-</sup> 的大肠癌细胞<sup>[29]</sup> 和成胶质细胞瘤<sup>[72]</sup> 均具有 CSC 特性, 因而针对 CD133 的靶向治疗不一定能有效治疗大肠癌和成胶质细胞瘤。

杀灭 CSC 还可从干细胞高表达的相关基因着手进行干预。A23187 可诱导肺癌细胞系高表达 GRP78 和 GRP94 的 CSC, CSC 具有较强的抗 VP-16 特性<sup>[39]</sup>, 如抑制 GRP78 和 GRP94 的表达, 可能使肺癌 CSC 对 VP-16 的治疗敏感。慢性髓性白血病预后差的患者体内白血病细胞起始细胞 (acute leukemia-initiating cells, LIC) 高表达前髓细胞白血病蛋白 (promyelocytic leukemia, PML), 且 PML 是维持 LIC 增殖分化必不可少的因子, 使用 As2O3 可逆转 LIC 中 PML 的表达, 患者对再使用的雷帕霉素治疗敏感<sup>[73]</sup>。

CSC 产生后, 已发现肿瘤抑制基因突变或缺失, 相应信号通路激活维持 CSC 表型。成胶质细胞瘤 P53 基因的失活与肿瘤的高侵袭性和 CSC 产生有关<sup>[74]</sup>; Pten 基因失活与白血病干细胞、前列腺癌 CSC、乳腺癌 CSC、成胶质细胞瘤 CSC 的增殖分化相关<sup>[63, 74-78]</sup>; 阻断 Pten 失活后激活的信号通路 PI3K/AKT, 可阻断前列腺癌 CSC 的转化<sup>[78]</sup>; 阻断小鼠乳腺间质成纤维细胞 Pten 失活后高表达基因 Ets2, 小鼠乳腺上皮细胞肿瘤形成率降低<sup>[63]</sup>。修正 CSC 细胞失活的肿瘤抑制基因, 或阻断肿瘤抑制基因失活后诱发的信号通路, 可能成为消除 CSC 的治疗新策略。

### 3.2 阻断 EMT 和 MET

癌细胞出现 EMT 从原发瘤部位侵入周围间质, 进入微血管, 形成循环内瘤细胞。癌细胞出现 EMT 后, 细胞增殖暂时性停滞, 具有抗凋亡作用, 细胞迁移能力增强, 同时表达 CSC 标记物, 因而认为 CSC 出现 EMT 是肿瘤侵袭和转移的重要特征<sup>[52-54]</sup>。TNF- $\alpha$  抵抗的乳腺癌细胞系 MCF-7 出现 EMT 特性, 由 MEK/Erk5 信号通路诱导 SNAI2 和 ZEB1 基因高表达, 肿瘤细胞侵袭转移能力增强<sup>[79]</sup>。前列腺癌抑制分化因子 ID-1 与胞膜蛋白 caveolin-1 结合, 癌细胞出现抗凋亡和 EMT 特性, 转移能力增强<sup>[80]</sup>。

食管鳞状细胞癌表达 Snail 蛋白并同时表达波形蛋白,而上皮性标记物钙黏蛋白表达缺失或降低,癌组织侵袭能力增强,淋巴结转移率增高<sup>[81]</sup>。miR-200 靶向作用于锌指蛋白家族 ZEB1 和 ZEB2,高表达 PDGF-D 的前列腺癌产生 EMT 且表现高浸润与转移能力;下调 miR-200 后,癌细胞 EMT 特性逆转,浸润与迁移能力降低<sup>[82]</sup>。这些研究均提示抑制癌细胞 EMT 及其诱发的相应信号通路,能够降低癌细胞的侵袭与转移能力。由于 EMT 是 CSC 的重要特征之一,阻断 EMT 可能抑制 CSC 和(或)MCSC。

癌细胞转移过程中,EMT 与 MET 交替出现,即使进入循环内的癌细胞,如果不能有效发生 MET,也不能使转移瘤形成。内质网蛋白 29(endoplasmic reticulum protein 29, ERp29)使乳腺癌细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞,抑制细胞增殖。高表达 ERp29 的乳腺癌细胞重新出现上皮细胞钙黏蛋白表达,间质标记物波形蛋白表达降低,癌细胞出现 MET,细胞迁移能力降低,植入裸鼠成瘤能力、侵袭转移能力均降低<sup>[56]</sup>。大肠癌细胞系 SW480 产生 MET 时,CDH22 表达降低,RNA 干扰 PRL-3 后,癌细胞又出现 CDH22 的表达<sup>[83]</sup>,提示 MET 转变的癌细胞逆转为上皮样癌细胞,可能抑制肿瘤转移。然而,抑制 CSC 的 MET 或使 CSC 重新表达上皮性标记物导致肿瘤转移能力降低的直接证据仍未出现。

### 3.3 抑制 MCSC 的微血管黏附

肿瘤细胞从原发部位进入循环后,必须与靶器官微血管黏附,才能进入靶器官间质增殖、分化形成转移瘤。按照 CSC 层级结构理论,进入循环中的瘤细胞可能为 CSC 或肿瘤子代细胞,肿瘤子代细胞不具备形成肿瘤能力,最终增殖分化后而凋亡,或因化疗药物的作用而死亡,因而存留于循环内并最终增殖分化形成转移瘤的细胞为 MCSC。抑制 MCSC 与靶器官微血管的黏附,使之不能进入靶器官,就能抑制转移瘤的形成。

循环系统内肿瘤细胞与靶器官的黏附,不仅依赖于癌细胞-癌细胞、癌细胞-血细胞、癌细胞-内皮细胞之间的相互黏附作用,也与癌细胞膜上表达的受体/配体与靶器官化学趋化因子有关。高表达趋化因子受体 CXCR4 的癌细胞转移力强,CXCR4 的配体 SDF-1(又称 CXCL12)高表达于肝、肺、骨髓和淋巴结。胰腺癌 CSC 高表达 CXCR4,使表现出高转移特性,说明 CXCR4-CXCL12 轴参与 MCSC 介导的转移瘤的形成<sup>[46]</sup>。此外,乳腺癌转移亦与 CXCR4-CXCL12 轴有关<sup>[84]</sup>。体外研究<sup>[85]</sup>发现,应用 CXCR4 抑制剂 TN14003 可阻断 CXCR4<sup>+</sup>的胰腺癌细

胞浸润;动物实验发现<sup>[86]</sup>,TN14003 能使乳腺癌小鼠实验性肺转移率降低。同样,细胞外基质中的透明质酸、层黏连蛋白、纤维黏连蛋白和胶原蛋白为 CD44 分子的配体,多种 CSC 细胞表达 CD44<sup>[7, 87-88]</sup>,可能与 CSC 细胞易与血管壁 CD44 多种配体结合介导肿瘤转移有关。抑制或阻断 MCSC 细胞与微血管内皮细胞、血管壁基质的黏附,可望成为有效的抗肿瘤转移治疗方案。

### 3.4 阻断 MCSC 依赖的小生境

CSC 渗出血管,进入靶器官间质中进行增殖分化,依赖于靶器官微环境。靶器官内小生境维持 MCSC 的干细胞状态,调节 CSC 的分化与增生。MCSC 小生境的形成有 2 种观点,其一为骨髓间质干细胞/骨髓前体细胞先于 CSC 细胞到达靶器官,形成适合于 CSC 细胞生长的“土壤”<sup>[65-66]</sup>;其二为 MCSC 进入靶器官间质后,MCSC 分泌的细胞因子与靶器官间质相互作用,诱导靶器官转移小生境的形成<sup>[67]</sup>。MCSC 的自我更新、增殖分化形成转移瘤依赖于小生境内的生长因子,阻断 MCSC 小生境内生长因子及相应配体可阻止转移瘤的形成。

不管是骨髓间质干细胞/骨髓前体细胞形成的预转移环境,还是 MCSC 细胞与靶器官相互作用形成的转移微环境,均依赖于肿瘤血管生成。抑制肿瘤血管生成,就能抑制转移瘤的生长。血管内皮细胞生长因子(VEGF)、血管内皮细胞生长因子受体(VEGFR)、血小板源性生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)和成纤维细胞生长因子受体(FGFR)均与肿瘤的血管生长有关<sup>[89-91]</sup>。TSU48 可抑制 VEGFR2、PDGF $\beta$  和 FGFR1,裸鼠注射 TSU48 可使大肠癌实验性肝转移率降低,裸鼠肝组织内 CXCL1 显著降低,说明转移小生境内生长因子配体的降低不利于转移瘤的形成<sup>[92]</sup>。VEGFR1<sup>+</sup>的骨髓源性血管祖细胞和 VEGFR2<sup>+</sup>血管内皮细胞在小鼠肺组织内形成预转移环境,同时阻断 VEGFR1<sup>+</sup>和 VEGFR2<sup>+</sup>可抑制黑素瘤 B16 的小鼠肺转移<sup>[91]</sup>。阻断 CXCR4-CXCL12 轴,可能阻断了 MCSC 依赖的靶器官细胞外基质的黏附,抑制转移瘤的生长。

另外,阻断 MCSC 小生境,还能增强 MCSC 细胞对化疗药物的敏感性。组蛋白脱乙酰基酶抑制剂可阻断急性髓性白血病干细胞与骨髓基质细胞的黏附,减少白血病细胞的残留<sup>[93]</sup>,因而组蛋白脱乙酰基酶抑制剂治疗可能提高白血病干细胞的化疗敏感性。

## 4 结 语

MCSC 作为 CSC 的一个亚群,目前已成为肿瘤

转移机制研究与抗转移研究的重要课题。CSC 的来源和相关特性仍待完善, MCSC 有待于在多种肿瘤组织中分离与确认。目前还未在多种肿瘤组织中分离与鉴定 MCSC, MCSC 表达标志物尚不清楚, MCSC 生物学特性衍生于 CSC 的研究, 抗 MCSC 可能的治疗方案仅仅来源于肿瘤细胞群的研究结果的推测。MCSC 研究需解决的难题有: (1) MCSC 存在的普遍性, 需在多种肿瘤中分离与鉴定 MCSC; (2) MCSC 区别于 CSC 特征性标记物; (3) MCSC 迁移、黏附、进入血管/淋巴管、渗出血管/淋巴管机制与相关信号通路; (4) MCSC 靶器官内小生境形成机制; (5) MCSC 的动态演变过程; (6) 杀灭 CSC 能否同时杀灭 MCSC? (7) MCSC 和 CSC 是否因对称分裂而扩增? (8) 靶器官环境能否诱导 CSC 转化为 MCSC。这些难题的解决, 可以解密肿瘤转移机制, 有利于建立新的抗肿瘤转移策略。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Luzzi KJ, MacDonald IC, Schmidt EE, *et al.* Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases [ J ]. *Am J Pathol*, 1998, 153(3): 865-873.
- [ 2 ] Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* Cancer statistics, 2008 [ J ]. *CA Cancer J Clin*, 2008, 58(2): 71-96.
- [ 3 ] Ishii H, Iwatsuki M, Ieta K, *et al.* Cancer stem cells and chemoradiation resistance [ J ]. *Cancer Sci*, 2008, 99(10): 1871-1877.
- [ 4 ] Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions [ J ]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(10): 755-768.
- [ 5 ] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, *et al.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells [ J ]. *Nature*, 2001, 414(6859): 105-111.
- [ 6 ] 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.
- [ 7 ] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, *et al.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(7): 3983-3988.
- [ 8 ] 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.
- [ 9 ] Collins AT, Berry PA, Hyde C, *et al.* Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells [ J ]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 10946-10951.
- [ 10 ] Schatton T, Murphy GF, Frank NY, *et al.* Identification of cells initiating human melanomas [ J ]. *Nature*, 2008, 451(7176): 345-349.
- [ 11 ] 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.
- [ 12 ] 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.
- [ 13 ] Yang ZF, Ngai P, Ho DW, *et al.* Identification of local and circulating cancer stem cells in human liver cancer [ J ]. *Hepatology*, 2008, 47(3): 919-928.
- [ 14 ] 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.
- [ 15 ] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, *et al.* Identification of human brain tumour initiating cells [ J ]. *Nature*, 2004, 432(7015): 396-401.
- [ 16 ] 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.
- [ 17 ] Hemmati HD, Nakano I, Lazareff JA, *et al.* Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(25): 15178-15183.
- [ 18 ] Berns A. Stem cells for lung cancer [ J ]? *Cell*, 2005, 121(6): 811-813.
- [ 19 ] 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.
- [ 20 ] Li CY, Li BX, Liang Y, *et al.* Higher percentage of CD133<sup>+</sup> cells is associated with poor prognosis in colon carcinoma patients with stage III B [ J ]. *J Transl Med*, 2009, 7: 56.
- [ 21 ] Horst D, Kriegl L, Engel J, *et al.* CD133 expression is an independent prognostic marker for low survival in colorectal cancer [ J ]. *Br J Cancer*, 2008, 99(8): 1285-1289.
- [ 22 ] Buess M, Rajsiki M, Vogel-Durrer BM, *et al.* Tumor-endothelial interaction links the CD44<sup>(+)</sup>/CD24<sup>(-)</sup> phenotype with poor prognosis in early-stage breast cancer [ J ]. *Neoplasia*, 2009, 11(10): 987-1002.
- [ 23 ] Heuser M, Sly LM, Argiropoulos B, *et al.* Modelling the functional heterogeneity of leukemia stem cells: role of STAT5 in leukemia stem cell self-renewal [ J ]. *Blood*, 2009, 114(19): 3983-3993.
- [ 24 ] Tu SM, Lin SH, Logothetis CJ. Stem-cell origin of metastasis and heterogeneity in solid tumours [ J ]. *Lancet Oncol*, 2002, 3(8): 508-513.
- [ 25 ] Fuhrmann C, Schmidt-Kittler O, Stoecklein NH, *et al.* High-resolution array comparative genomic hybridization of single micrometastatic tumor cells [ J ]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(7): e39.
- [ 26 ] Bartkowiak K, Wiczorek M, Buck F, *et al.* Two-dimensional differential gel electrophoresis of a cell line derived from a breast cancer micrometastasis revealed a stem/progenitor cell protein profile [ J ]. *J Proteome Res*, 2009, 8(4): 2004-2014.
- [ 27 ] Wright MH, Calcagno AM, Salcido CD, *et al.* Brca1 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.
- [ 28 ] Wright MH, Robles AI, Herschkowitz JI, *et al.* Molecular analysis reveals heterogeneity of mouse mammary tumors conditionally mutant for Brca1 [ J ]. *Mol Cancer*, 2008, 7: 29.
- [ 29 ] Shmelkov SV, Butler JM, Hooper AT, *et al.* CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133<sup>+</sup> and CD133<sup>-</sup> metastatic colon cancer cells initiate tumors [ J ]. *J Clin Invest*, 2008, 118(6): 2111-2120.

- [ 30 ] Meng X, Li M, Wang X, *et al.* Both CD133( + ) and CD133( - ) subpopulations of A549 and H446 cells contain cancer-initiating cells [ J ]. *Cancer Sci*, 2009, 100( 6 ): 1040-1046.
- [ 31 ] Kusumbe AP, Mali AM, Bapat SA. CD133-expressing stem cells associated with ovarian metastases establish an endothelial hierarchy and contribute to tumor vasculature [ J ]. *Stem Cells*, 2009, 27( 3 ): 498-508.
- [ 32 ] Ferrand A, Sandrin MS, Shulkes A, *et al.* Expression of gastrin precursors by CD133<sup>-</sup> positive colorectal cancer cells is crucial for tumour growth [ J ]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793( 3 ): 477-488.
- [ 33 ] Choi D, Lee HW, Hur KY, *et al.* Cancer stem cell markers CD133 and CD24 correlate with invasiveness and differentiation in colorectal adenocarcinoma [ J ]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15( 18 ): 2258-2264.
- [ 34 ] Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, *et al.* Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2 [ J ]. *N Engl J Med*, 2001, 344( 11 ): 783-792.
- [ 35 ] Zhang Q, Shi S, Yen Y, *et al.* A subpopulation of CD133( + ) cancer stem-like cells characterized in human oral squamous cell carcinoma confer resistance to chemotherapy [ J ]. *Cancer Lett*, 2009, [ 2009-09-10 ]. [ Epub ahead of print ].
- [ 36 ] Fillmore CM, Kuperwasser C. Human breast cancer cell lines contain stem-like cells that self-renew, give rise to phenotypically diverse progeny and survive chemotherapy [ J ]. *Breast Cancer Res*, 2008, 10( 2 ): R25.
- [ 37 ] Ahmed KM, Li JJ. NF-kappa B-mediated adaptive resistance to ionizing radiation [ J ]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44( 1 ): 1-13.
- [ 38 ] Creighton CJ, Li X, Landis M, *et al.* Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106( 33 ): 13820-13825.
- [ 39 ] Zhang L, Wang S, Wangtao, *et al.* Upregulation of GRP78 and GRP94 and its function in chemotherapy resistance to VP-16 in human lung cancer cell line SK-MES-1 [ J ]. *Cancer Invest*, 2009, 27( 4 ): 453-458.
- [ 40 ] Syme R, Stewart D, Rodriguez-Galvez M, *et al.* Micrometastases in apheresis products predict shorter progression-free and overall survival in patients with breast cancer undergoing high-dose chemotherapy ( HDCT ) and autologous blood stem cell transplantation ( ABSCT ) [ J ]. *Bone Marrow Transplant*, 2003, 32( 3 ): 307-311.
- [ 41 ] Theodoropoulos PA, Polioudaki H, Agelaki S, *et al.* Circulating tumor cells with a putative stem cell phenotype in peripheral blood of patients with breast cancer [ J ]. *Cancer Lett*, 2009, [ 2009-07-18 ]. [ Epub ahead of print ].
- [ 42 ] Morrison SJ, Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer [ J ]. *Nature*, 2006, 441( 7097 ): 1068-1074.
- [ 43 ] Zhang F, Zhao D, Lu J, *et al.* Asymmetric somatic stem cells division plays a critical role in cell senescence [ J ]. *Med Hypotheses*, 2007, 68( 2 ): 453-454.
- [ 44 ] Caussinus E, Hirth F. Asymmetric stem cell division in development and cancer [ J ]. *Prog Mol Subcell Biol*, 2007, 45: 205-225.
- [ 45 ] Liu HG, You J, Pan YF, *et al.* Cancer Stem Cell Hierarchy [ J ]. *Stem Cell Rev Rep*, 2009, 5( 2 ): 174.
- [ 46 ] 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.
- [ 47 ] Maeda S, Shintchi H, Kurahara H, *et al.* CD133 expression is correlated with lymph node metastasis and vascular endothelial growth factor-C expression in pancreatic cancer [ J ]. *Br J Cancer*, 2008, 98( 8 ): 1389-1397.
- [ 48 ] Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Iovino F, *et al.* Breast cancer cell lines contain functional cancer stem cells with metastatic capacity and a distinct molecular signature [ J ]. *Cancer Res*, 2009, 69( 4 ): 1302-1313.
- [ 49 ] LaBarge MA, Bissell MJ. Is CD133 a marker of metastatic colon cancer stem cells [ J ]? *J Clin Invest*, 2008, 118( 6 ): 2021-2024.
- [ 50 ] Dalerba P, Clarke MF. Cancer stem cells and tumor metastasis: first steps into uncharted territory [ J ]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1( 3 ): 241-242.
- [ 51 ] Radisky DC. Epithelial-mesenchymal transition [ J ]. *J Cell Sci*, 2005, 118( Pt 19 ): 4325-4326.
- [ 52 ] Hugo H, Ackland ML, Blick T, *et al.* Epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transitions in carcinoma progression [ J ]. *J Cell Physiol*, 2007, 213( 2 ): 374-383.
- [ 53 ] Brabletz T, Hlubek F, Spaderna S, *et al.* Invasion and metastasis in colorectal cancer: epithelial-mesenchymal transition, mesenchymal-epithelial transition, stem cells and beta-catenin [ J ]. *Cells Tissues Organs*, 2005, 179( 1-2 ): 56-65.
- [ 54 ] Aktas B, Tewes M, Fehm T, *et al.* Stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers are frequently overexpressed in circulating tumor cells of metastatic breast cancer patients [ J ]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11( 4 ): R46.
- [ 55 ] Kudo-Saito C, Shirako H, Takeuchi T, *et al.* Cancer metastasis is accelerated through immunosuppression during Snail-induced EMT of cancer cells [ J ]. *Cancer Cell*, 2009, 15( 3 ): 195-206.
- [ 56 ] Bambang IF, Xu S, Zhou J, *et al.* Overexpression of endoplasmic reticulum protein 29 regulates mesenchymal-epithelial transition and suppresses xenograft tumor growth of invasive breast cancer cells [ J ]. *Lab Invest*, 2009, 89( 11 ): 1229-1242.
- [ 57 ] Dittmar T, Heyder C, Gloria-Maercker E, *et al.* Adhesion molecules and chemokines: the navigation system for circulating tumor ( stem ) cells to metastasize in an organ-specific manner [ J ]. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25( 1 ): 11-32.
- [ 58 ] Hurt EM, Kawasaki BT, Klarmann GJ, *et al.* CD44( + )CD24( - ) prostate cells are early cancer progenitor/stem cells that provide a model for patients with poor prognosis [ J ]. *Br J Cancer*, 2008, 98( 4 ): 756-765.
- [ 59 ] Ramaswamy S. Cancer transcriptomics: modeling metastasis [ J ]. *Eur J Hum Genet*, 2006, 14( 1 ): 1-2.
- [ 60 ] Scadden DT. The stem-cell niche as an entity of action [ J ]. *Nature*, 2006, 441( 7097 ): 1075-1079.
- [ 61 ] Zhang J, Niu C, Ye L, *et al.* Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size [ J ]. *Nature*, 2003, 425( 6960 ): 836-841.
- [ 62 ] Yen TH, Wright NA. The gastrointestinal tract stem cell niche

- [ J ]. *Stem Cell Rev*, 2006, 2(3): 203-212.
- [ 63 ] Trimboli AJ, Cantemir-Stone CZ, Li F, *et al.* Pten in stromal fibroblasts suppresses mammary epithelial tumours [ J ]. *Nature*, 2009, 461(7267): 1084-1091.
- [ 64 ] Zhdanov VP. Kinetics of the formation of cancer metastases via induced premetastatic cancer-stem-cell niches [ J ]. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 2009, 79(6 Pt 1): 061913.
- [ 65 ] Psaila B, Kaplan RN, Port ER, *et al.* Priming the 'soil' for breast cancer metastasis: the pre-metastatic niche [ J ]. *Breast Dis*, 2006, 26: 65-74.
- [ 66 ] Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, *et al.* VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche [ J ]. *Nature*, 2005, 438(7069): 820-827.
- [ 67 ] Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, *et al.* Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion [ J ]. *Cell*, 2005, 121(3): 335-348.
- [ 68 ] Braun S, Pantel K, Muller P, *et al.* Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II, or III breast cancer [ J ]. *N Engl J Med*, 2000, 342(8): 525-533.
- [ 69 ] Berois N, Blanc E, Ripoche H, *et al.* ppGalNAc-T13: a new molecular marker of bone marrow involvement in neuroblastoma [ J ]. *Clin Chem*, 2006, 52(9): 1701-1712.
- [ 70 ] Rappa G, Fodstad O, Lorico A. The stem cell-associated antigen CD133 (Prominin-1) is a molecular therapeutic target for metastatic melanoma [ J ]. *Stem Cells*, 2008, 26(12): 3008-3017.
- [ 71 ] Wu Y, Wu PY. CD133 as a marker for cancer stem cells: progresses and concerns [ J ]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(8): 1127-1134.
- [ 72 ] Joo KM, Kim SY, Jin X, *et al.* Clinical and biological implications of CD133-positive and CD133-negative cells in glioblastomas [ J ]. *Lab Invest*, 2008, 88(8): 808-815.
- [ 73 ] Ito K, Bernardi R, Morotti A, *et al.* PML targeting eradicates quiescent leukaemia-initiating cells [ J ]. *Nature*, 2008, 453(7198): 1072-1078.
- [ 74 ] Zheng H, Ying H, Yan H, *et al.* p53 and Pten control neural and glioma stem/progenitor cell renewal and differentiation [ J ]. *Nature*, 2008, 455(7216): 1129-1133.
- [ 75 ] Xu Q, Yuan X, Liu G, *et al.* Hedgehog signaling regulates brain tumor-initiating cell proliferation and portends shorter survival for patients with PTEN-coexpressing glioblastomas [ J ]. *Stem Cells*, 2008, 26(12): 3018-3026.
- [ 76 ] Korsten H, Ziel-van der Made A, Ma X, *et al.* Accumulating progenitor cells in the luminal epithelial cell layer are candidate tumor initiating cells in a Pten knockout mouse prostate cancer model [ J ]. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5662.
- [ 77 ] Guo W, Lasky JL, Chang CJ, *et al.* Multi-genetic events collaboratively contribute to Pten-null leukaemia stem-cell formation [ J ]. *Nature*, 2008, 453(7194): 529-533.
- [ 78 ] Dubrovskaya A, Kim S, Salamone RJ, *et al.* The role of PTEN/Akt/PI3K signaling in the maintenance and viability of prostate cancer stem-like cell populations [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(1): 268-273.
- [ 79 ] Zhou C, Nitschke AM, Xiong W, *et al.* Proteomic analysis of tumor necrosis factor-alpha resistant human breast cancer cells reveals a MEK5/Erk5-mediated epithelial-mesenchymal transition phenotype [ J ]. *Breast Cancer Res*, 2008, 10(6): R105.
- [ 80 ] Zhang X, Ling MT, Wang Q, *et al.* Identification of a novel inhibitor of differentiation-1 (ID-1) binding partner, caveolin-1, and its role in epithelial-mesenchymal transition and resistance to apoptosis in prostate cancer cells [ J ]. *J Biol Chem*, 2007, 282(46): 33284-33294.
- [ 81 ] Usami Y, Satake S, Nakayama F, *et al.* Snail-associated epithelial-mesenchymal transition promotes oesophageal squamous cell carcinoma motility and progression [ J ]. *J Pathol*, 2008, 215(3): 330-339.
- [ 82 ] Kong D, Li Y, Wang Z, *et al.* miR-200 regulates PDGF-D-mediated epithelial-mesenchymal transition, adhesion, and invasion of prostate cancer cells [ J ]. *Stem Cells*, 2009, 27(8): 1712-1721.
- [ 83 ] Liu Y, Zhou J, Chen J, *et al.* PRL-3 promotes epithelial mesenchymal transition by regulating cadherin directly [ J ]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(14): 1352-1359.
- [ 84 ] Muller A, Homey B, Soto H, *et al.* Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [ J ]. *Nature*, 2001, 410(6824): 50-56.
- [ 85 ] Mori T, Doi R, Koizumi M, *et al.* CXCR4 antagonist inhibits stromal cell-derived factor 1-induced migration and invasion of human pancreatic cancer [ J ]. *Mol Cancer Ther*, 2004, 3(1): 29-37.
- [ 86 ] Liang Z, Wu T, Lou H, *et al.* Inhibition of breast cancer metastasis by selective synthetic polypeptide against CXCR4 [ J ]. *Cancer Res*, 2004, 64(12): 4302-4308.
- [ 87 ] Haraguchi N, Ohkuma M, Sakashita H, *et al.* CD133<sup>+</sup> CD44<sup>+</sup> population efficiently enriches colon cancer initiating cells [ J ]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(10): 2927-2933.
- [ 88 ] Takaishi S, Okumura T, Tu S, *et al.* Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44 [ J ]. *Stem Cells*, 2009, 27(5): 1006-1020.
- [ 89 ] Jayasinghe C, Simiantonaki N, Michel-Schmidt R, *et al.* Endothelial VEGFR-3 expression in colorectal carcinomas is associated with hematogenous metastasis [ J ]. *Oncol Rep*, 2009, 22(5): 1093-1100.
- [ 90 ] van Iterson V, Leidenius M, von Smitten K, *et al.* VEGF-D in association with VEGFR-3 promotes nodal metastasis in human invasive lobular breast cancer [ J ]. *Am J Clin Pathol*, 2007, 128(5): 759-766.
- [ 91 ] Gille J, Heidenreich R, Pinter A, *et al.* Simultaneous blockade of VEGFR-1 and VEGFR-2 activation is necessary to efficiently inhibit experimental melanoma growth and metastasis formation [ J ]. *Int J Cancer*, 2007, 120(9): 1899-1908.
- [ 92 ] Yamamoto M, Kikuchi H, Ohta M, *et al.* TSU68 prevents liver metastasis of colon cancer xenografts by modulating the premetastatic niche [ J ]. *Cancer Res*, 2008, 68(23): 9754-9762.
- [ 93 ] Mahlknecht U, Schonbein C. Histone deacetylase inhibitor treatment downregulates VLA-4 adhesion in hematopoietic stem cells and acute myeloid leukemia blast cells [ J ]. *Haematologica*, 2008, 93(3): 443-446.

[ 收稿日期 ] 2009 - 11 - 20

[ 修回日期 ] 2009 - 12 - 06

[ 本文编辑 ] 王莹