

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.01.020

· 综述 ·

胶质瘤干细胞及相关的信号转导通路

Glioma stem cells and related signal transduction pathways

郑克彬^{1,2}综述,焦保华^{1,2}审阅(1. 河北医科大学第二医院 神经外科; 2. 河北大学附属医院 神经外科,河北石家庄 051000)

[摘要] 胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSC)是近年来在胶质瘤组织中发现的肿瘤干细胞。GSC具有自我更新和分化的能力,可以通过不断分化产生新的肿瘤;对GSC标志物的鉴定有助于胶质瘤恶性程度的诊断。GSC的起源目前仍不明确,成熟的神经胶质细胞、限制性神经祖细胞以及神经干细胞均可能为GSC的前体。推测如Wnt、Notch、SHH、BMI1、PTEN等信号通路活跃在GSC中,一些新的治疗手段通过作用于GSC的信号转导通路可靶向治疗胶质瘤。深入研究GSC的起源、标志物以及相关信号转导通路,可为胶质瘤治疗提供新的策略。

[关键词] 胶质瘤干细胞;标志物;信号通路;治疗

[中图分类号] R739.4; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)01-0107-04

随着肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)研究的进展,胶质瘤干细胞(glioma stem cell, GSC)的存在已经得到证实,它和胶质瘤的发生、发展以及复发有着密切关系^[1-2],探讨GSC的起源、特性、维持机制以及信号转导通路具有十分重要的意义。如何靶向GSC,如何从信号转导水平进行干预治疗脑胶质瘤,人们做了大量的基础研究。本文将对GSC的表面标志物、起源以及相关的信号转导通路的做一综述。

1 GSC的特性和起源

1.1 GSC的定义

神经干细胞是一种在细胞分化、活化、修复过程中具有自我更新和无限增殖能力的细胞,但也有观点认为神经细胞大多来自前体细胞基因异常,而不是自我更新。临床上将GSC定义为一种在体内具有自我更新以及延续肿瘤原位移植特性的,并在体内和体外产生多元化神经和神经胶质样细胞分裂后代的神经祖细胞^[1]。

1.2 GSC表面标志物

CD133是表达在血液以及其他组织包括脑在内的干细胞表面的特异性抗原^[3]。从人脑胶质瘤细胞分离出的CD133阳性细胞在含有表皮生长因子和成纤维生长因子的非黏附培养基中可形成神经球,当这些生长因子被撤除时,在肿瘤细胞贴壁生长的中期,一部分细胞开始分化为神经元和神经胶质细胞^[4]。这种CD133阳性的由神经球形成的干细胞,数量较少,但是它们被认为是最具肿瘤特性的肿瘤细胞。新鲜分离的恶性胶质瘤细胞,将其接种小鼠,至少需 1×10^5 个胶质瘤细胞才能形成肿瘤;相

比之下,只需100个CD133阳性胶质瘤细胞即可形成肿瘤^[5],并有报道CD133阳性胶质瘤细胞是相对抗辐射的^[6]。

但是如神经干细胞的定义一样,并非所有的GSC都适合目前的定义。CD133是目前用于鉴定GSC公认的标志物,然而并不是最理想的标志物细胞。已经有实验^[7]表明,有CD133肿瘤干细胞的存在。所以确认肿瘤干细胞应该集中在功能实验而不是通过单一的特异性标记物的检测。

1.3 GSC的起源

1.3.1 成熟的神经胶质细胞 目前发现,出生后脑中唯一具有复制能力的神经祖细胞为成熟的星形胶质细胞^[8]。而目前存在的问题是正常胶质细胞是否存在恶性转化能力,成熟的胶质细胞如何转化成为恶性、嵌入性的人脑胶质瘤细胞,这种逆行分化形式目前仍不能证实。但最近已有研究^[9]表明,一些转录因子可以将正常的皮肤细胞转化成为全能的胚胎干细胞,从这个方面来看,星形胶质细胞可能逆向转换为多能神经祖细胞。研究^[10]表明,早期的大脑皮质星形胶质细胞可以被癌基因或者特定信号激活,并在动物模型中形成脑胶质瘤。例如从

[基金项目] 河北省自然科学基金资助(No. 02101000532);河北大学医学学科专项资金建设项目基金资助(No. 2012B2004)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. 02101000532), and the Special Construction Foundation of Medical Disciplines in Hebei University (No. 2012B2004)

[作者简介] 郑克彬(1982-),男,河北保定人,博士生,主要从事脑胶质瘤分子病理及基因研究

[通信作者] 焦保华(JIAO Bao-hua, corresponding author), E-mail: jiaobh2000@163.com

p16^{Ink4a}/p19^{Arf}系小鼠分离的星形胶质细胞系可以通过逆转录病毒转染使其成为活跃表达表皮生长因子受体(epidermal growth factor, EGF)的细胞,这些转基因的星形胶质细胞可以移植入 SCID 大鼠,形成脑胶质瘤^[11]。

逆转录病毒表达载体只能感染增殖细胞,因此需选择相对未成熟的星形胶质细胞建立感染模型^[12],这种星形胶质细胞可以从新生儿脑皮质培养,但培养成人星形胶质细胞系是非常困难的。体内缺少可靠的星形胶质细胞的标记,常用的鉴定星形胶质细胞的标记蛋白为 GFAP^[13]。因此,对胶质瘤分化假说一个重大的挑战就是如何能够选择一种致癌性完全成熟的星形胶质细胞作为合适的细胞模型。

1.3.2 限制性神经祖细胞

大脑中具有复制能力的神经祖细胞为胶质瘤细胞提供了来源,由于神经祖细胞的自我更新机制已经激活,保持这种祖细胞的分化能力理论上应该比细胞逆向分化更加简单,即更少的突变便可以激活神经祖细胞的“瘤”分化潜能^[14]。限制性神经祖细胞被定义为具有单向分化能力的神经祖细胞,也可被认为是特定细胞系的前体细胞,例如小胶质神经细胞前体细胞和少突胶质细胞前体细胞等。Kondo 等^[15]证明,少突胶质细胞经过体外处理可以引起染色体的重塑,恢复原始上皮标志 SOX2,重新获得祖细胞样能力。而另一项实验^[16]证明了 SOX2 广泛表达于胶质瘤细胞,表明胶质瘤的发生与限制性神经祖细胞转化为特定的细胞类型具有类似的发生机制。

限制性神经祖细胞首先需要获得多能祖细胞自我更新潜能,以便有机会发生更多的突变,以完成向瘤细胞的转变。

NG2 细胞是成年人脑内最活跃连续分裂细胞,被认为具有无限增殖的能力,且大多数 NG2 细胞表达的少突胶质细胞系发生过程中具有所必须的 Olig2 (oligodendrocyte transcription factor 2) 表达^[17]。有一部分学者认为,NG2 细胞在一定程度上可称为少突胶质细胞的祖细胞,还有的学者认为,NG2 细胞可自称为是一种神经细胞系^[18]。虽然现在还不清楚 NG2 细胞中是否代表了不同功能的限制性神经祖细胞子集,NG2 细胞的子集是否具有独特的能力以形成星形胶质细胞和少突胶质细胞,但可能是 NG2 细胞作为通过表观遗传学机制所描述的少突胶质细胞前体及神经祖细胞的概念是可以成立的。

1.3.3 神经干细胞 目前已证实,脑组织中存在着具有自我更新能力,可分化为神经元、星形胶质细胞以及少突胶质细胞的一类细胞,这类细胞被称为神

经干细胞^[3]。在胚胎早期干细胞主要引起种群扩增的对称分裂,在神经发生期主要产生不对称性分裂,分裂过程主要产生新的干细胞和祖细胞。

神经干细胞存在于成人的脑组织中特定区域,如齿状回和室管膜下区等,而这些区域正是最易发生神经胶质瘤病的区域。胶质瘤发生区不同于其发展区,可能由于神经干细胞的不对称分裂后细胞迁移所造成的^[19-20]。Reya 等^[21]认为,单一细胞经 4~7 次突变就可能发生恶性转变,组织更新越快,复制、转录过程中发生基因突变的概率就越高。神经干细胞是脑内唯一能够长期存活并保持增殖能力的细胞,存活时间长便意味着干细胞具有更大的概率发生突变,而处于增殖状态的神经干细胞更易受到微环境的改变而发生突变。GSC 及神经干细胞均表达 CD133 及 Nestin 蛋白^[4],胶质瘤亦具有多形性,包括多种细胞类型,这提示 GSC 可能来源于多潜能的神经干细胞。

2 GSC 信号转导通路

成人脑组织中神经祖细胞的生长和发育过程中的信号转导通路同样活跃在许多高级别的胶质瘤细胞及脑胶质瘤细胞系,而 GSC 的细胞特性与前者具有很多共同的特性。推测它们应该具有许多相似的生长调控机制,GSC 中的信号转导通路各成体系而又密切相关,如 Wnt、Notch、SHH、BMI1、PTEN 等通路。

2.1 Wnt/ β -catenin 信号转导通路

Wnt/ β -catenin 信号对于干细胞的保持、增殖以及分化至关重要,其缺陷会导致干细胞的萎缩、缺如,组织的再生、修复受阻^[22],有研究^[23]证实,此信号转导通路活化可通过扩增干细胞的数量而导致肿瘤的生成。研究^[24]发现,在过表达 β -catenin 小鼠的大脑及脊髓的细胞组织成分大量增加,神经前体细胞数量增加。 β -catenin 表达缺失小鼠的神经前体细胞数量则与之相反,充分说明了中枢系统 Wnt/ β -catenin 信号可控制神经前体细胞的生长、增殖。Wnt 信号在干细胞分化方面的作用则比较复杂,一方面它能抑制分化,保持胚胎干细胞的多项分化潜能;另一方面它又能促进其他干细胞或者祖细胞的分化。Wnt/ β -catenin 信号在神经干细胞方面具有多重性,仍需进一步研究探讨。

2.2 Notch 信号转导通路

Notch 基因是 Morgan 在果蝇体内发现的,其信号通路由 Notch 受体,Notch 配体和 CSL-DNA 结合蛋白组成^[25]。Notch 信号转导通路的活化通常抑制而不是促进多能祖细胞向少突胶质细胞转化。在体

外培养的细胞中,即使短暂的激活 Notch 通路,海马区的多能祖细胞便可分化为星形胶质细胞。目前认为,在神经发育的不同阶段,Notch 信号转导通路具有不同的活性及功能,在神经元分化前期,Notch 活性增强可使干细胞维持未分化状态,抑制神经元的形成;在神经元分化的后期,Notch 活性增强可促进星形胶质细胞的形成,抑制少突胶质细胞的形成^[25-26]。已有研究^[27]显示,Notch 信号参与了众多肿瘤的发生,在一些肿瘤中起着促进肿瘤发生的作用,而在其他一些肿瘤中却起着抑制转化的作用。在成神经管细胞瘤细胞系中,Notch 信号被抑制后肿瘤干细胞的凋亡率提高了 14 倍,而后代分化细胞变化不明显^[28]。因此 Notch 信号在调控神经肿瘤干细胞中可能和正常细胞一样具有组织特异性。

2.3 SHH 信号转导通路

Hedgehog(HH)是编码一系列高度保守的分泌糖蛋白的基因家族,是一类在胚胎发育过程中起着关键作用的信号分子,包括 3 种同源基因 Sonic HH(SHH)、Indian HH(IHH)、Desert HH(DHH)。在神经系统发育中,SHH 信号可调控包括 SVZ 区、海马、嗅球、小脑等其他部位祖细胞的自我更新。有研究^[29]证明,Gli-1 的表达是细胞对 HH 信号转导发生反应的一个可靠标志。SHH 与 Gli-1 表达均与胶质瘤级别相关。少突胶质细胞前体细胞以及随后分化为少突胶质细胞均需要 SHH 信号,在 SHH 缺失突变体中少突胶质细胞的前体出现延迟并减少,甚至成熟的成年神经干细胞也会对 SHH 信号通路产生反应并持续增殖分化。众多研究结果提示,SHH 信号在神经干细胞的增殖、分化中起重要作用。

2.4 PTEN 信号转导通路

PTEN 是一种具有磷酸酶活性的抑癌基因,有研究^[30]对胶质瘤来源的神经干细胞的分析发现存在 10q 杂合性缺失,而 PTEN 所在的染色体位点正是为 10q,因此 PTEN 的缺失被认为是神经细胞肿瘤形成的关键基因事件。已有研究^[31]证实,PTEN 的缺失可以导致造血干细胞的增殖,而抑制 PTEN 的下游基因 mTOR 亦可以减少白血病小鼠中白血病干细胞的数量,延长其生存期。PTEN 可以特异地抑制 PI3K 依赖的蛋白激酶 B(PKB)的激活,通过对 PIP3 去磷酸化,拮抗 PI3K 的活性,降低细胞内 PIP3 浓度,抑制 PKB/AKT 活性。而 AKT 的下游基因众多,如 cyclinD1、NF- κ B、mTOR、Bcl-2 家族等涉及细胞周期、增殖、分化等多个方面。因此,PTEN 作为抑癌基因可能成为治疗肿瘤干细胞,尤其是 GSC 中一个重要的上游靶点。

3 结 语

GSC 成功分离、纯化并传代培养为深入研究胶质瘤的发生、发展以及患者预后提供了理论依据。从治疗角度看,只能通过对干细胞产生致命性杀伤才能从根本上治愈肿瘤;胶质瘤的耐药性实际就是因为 GSC 对放化疗的不敏感。总之,对于胶质瘤治疗的不满意之处可以通过对 GSC 的深入研究加以解决。从干细胞相关转导通路的分子机制出发,诱导 GSC 的分化及凋亡,抑制 GSC 的增殖,开发基于关键性蛋白的生物、化学以及计算机等多学科相关的综合性药物,将是胶质瘤治疗的重要方向。目前对于 GSC 信号转导的具体过程及众多相关蛋白功能的认识还不够,因此,还需深入研究它们的结构、功能、表达调控及其在生理环境下调控的分子机制,为了解 GSC 的增殖、黏附、分化、凋亡机制,更好地从分子水平上研发抗肿瘤药物奠定基础。

[参 考 文 献]

- [1] Charles DS, David HR. Glioma Stem Cells: A Midterm Exam [J]. Cell, 2008, 5(31): 832-847.
- [2] Fan X, Salford LG, Widegren B. Glioma stem cells: Evidence and limitation [J]. Semin Cancer Biol, 2007, 17(3): 214-218.
- [3] 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(6): 7011-7021.
- [4] 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(26): 15178-15183.
- [5] Kwak DH, Seo BB, Chang KT, et al. Roles of gangliosides in mouse embryogenesis and embryonic stem cell differentiation [J]. Exp Mol Med, 2011, 43(7): 379-88.
- [6] 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.
- [7] Wan F, Zhang S, Xie R, et al. The utility and limitations of neurosphere assay, CD133 immunophenotyping and side population assay in glioma stem cell research [J]. Brain Pathol, 2010, 20(5): 877-889.
- [8] Kanu OO, Hughes B, Di C, et al. Glioblastoma multiforme oncogenomics and signaling pathways [J]. Clin Med Oncol, 2009, 3(4): 39-52.
- [9] Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts [J]. Nat Biotechnol, 2008, 26(1): 101-106.
- [10] Uhrbom L, Kastemar M, Johansson FK, et al. Cell type-specific tumor suppression by Ink4a and Arf in Kras-induced mouse gliomagenesis [J]. Cancer Res, 2005, 65(6): 2065-2069.
- [11] 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 as-

- trocyteaxis [J]. *Cancer Cell*, 2002, 65(1): 269-277.
- [12] Doetsch F, Caille I, Lim DA, et al. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain [J]. *Cell*, 1999, 97(6): 703-716.
- [13] Varfhese M, Olstom H, Sandberg C. A compasion between stem cells from the adult human brain and from brain tumors [J]. *Neurosurgery*, 2008, 63(6): 1022-1033.
- [14] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells [J]. *Nature*, 2001, 414(8): 105-111.
- [15] Kondo T, Raff M. Chromatin remodeling and histone modification in the conversion of oligodendrocyte precursors to neural stem cells [J]. *Genes Dev*, 2004, 18(23): 2963-2972.
- [16] Schmitz M, Temme A, Senner V, et al. Identification of SOX2 as a novel glioma-associated antigen and potential target for T cell-based immunotherapy [J]. *Cancer*, 2007, 96(8): 1293-1301.
- [17] Ligon KL, Kesari S, Kitada M, et al. Development of NG2 neural progenitor cells requires Olig gene function [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(12): 7853-7858.
- [18] Wan F, Herold-Mende C, Campos B, et al. Association of stem cell-related markers and survival in astrocytic glioma [J]. *Biomarkers*, 2011, 16(2): 136-143.
- [19] 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.
- [20] Mantamadiotis T, Taraviras S. Self-renewal mechanisms in neural cancer stem cells [J]. *Front Biosci*, 2011, 16(10): 598-607.
- [21] Rivera S, Rivera C, Loriot Y, et al. Cancer stem cells: A new target for lung cancer treatment [J]. *Cancer Radiother*, 2011, 15(5): 355-364.
- [22] Glejzer A, Laudet E, Leprince P, et al. Wnt1 and BMP2: Two factors recruiting multipotent neural crest progenitors isolated from adult bone marrow [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(12): 2101-2114.
- [23] Prakash N, Wurst W. A Wnt signal regulates stem cell fate and differentiation *in vivo* [J]. *Neurodegener Dis*, 2007, 4(4): 333-338.
- [24] Adachi K, Mirzadeh Z, Sakaguchi M, et al. Beta-catenin signaling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(11): 2827-2836.
- [25] Hitoshi S, Alexson T, Tropepe V, et al. Notch pathway molecules are essential for the maintenance, but not the generation, of mammalian neural stem cells [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(7): 46-58.
- [26] Wang J, Wakeman TP, Lathia JD. Notch promotes radioresistance of glioma stem cells [J]. *Stem Cells*, 2010, 28(1): 17-28.
- [27] Huang Z, Cheng L, Guryanova OA, et al. Cancer stem cells in glioblastoma--molecular signaling and therapeutic targeting [J]. *Protein Cell*, 2010, 1(97): 638-655.
- [28] Genoud S, Lappe-Siefke C, Goebbels S, et al. Notch1 control of oligodendrocyte differentiation in the spinal cord [J]. *Cell Biol*, 2002, 158(4): 709-718.
- [29] Alberta JA, Park SK, Mora J, et al. Sonic hedgehog is required during an early phase of oligodendrocyte development in mammalian brain [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2001, 18(4): 434-441.
- [30] Li L, Liu F, Ross AH. PTEN regulation of neural development and CNS stem cells [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 88(1): 24-28.
- [31] Yilnaz OH, Valdez R, Theisen BK, et al. Pten dependence distinguishes Haen atopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells [J]. *Nature*, 2006, 441(5): 475-482.
- [收稿日期] 2011-08-10 [修回日期] 2011-12-26
[本文编辑] 韩丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》“转化医学”栏目征稿启事

转化医学(translational medicine)是近年国际医学领域出现的新热潮,是实验研究与临床研究双向转化(bench to bedside and bedside to bench)的研究体系,转化医学为基础研究和临床医疗之间架起了桥梁,从而把基础医学研究的最新成果快速、有效地转化为临床疾病诊治的药物、技术和手段,有力地推动医学科学的发展。

为了顺应转化医学的发展热潮,为我国广大肿瘤防治工作者提供有关“转化医学”信息传播和学术交流的平台,促进转化医学在肿瘤学领域的发展,本刊特开辟“转化医学”新栏目,并向广大肿瘤防治工作者征集“转化医学”相关稿件。

本刊“转化医学”栏目文稿内容包括以下几个方面:

- (1)宣传“转化医学”的观念、理论、研究体系、研究模式和方法、发展趋势等;
- (2)讨论我国肿瘤学领域深入开展“转化医学”研究的策略和措施;
- (3)介绍国外肿瘤学领域“转化医学”发展的新闻、成功案例和发展动向;
- (4)我国作者肿瘤学领域“转化医学”的研究成果和经验体会;
- (5)与“转化医学”有关的在肿瘤学领域有发表价值的其他文稿。

“转化医学”文稿的写作格式要求,如果是(4)类中的原创性研究成果文稿,格式同本刊论著(基础研究和临床研究);如果是(1)、(2)、(3)和(5)类的文稿,格式类似于本刊的综述,篇幅在 5 000 字以内,附中文摘要(报道式、非结构式),文内图表用中文表达,参考文献应精选最主要的 20 篇左右。文稿的文字力求简洁明了、通顺流畅、层次清楚、重点突出。如文稿有新颖性,可进入本刊快速发表通道,在 3 个月左右发表。

(本刊编辑部)