

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.06.010

肝癌 Huh7 干细胞样细胞的富集培养及鉴定

张涛, 李东[▲], 漆仲春, 彭晶晶, 陈滔, 谭勇, 周进军, 许涛, 付曾强, 刘煜, 李华(成都军区总医院 肿瘤诊治中心, 四川成都 810063)

[摘要] **目的:**建立一种体外有效富集、培养和鉴定具有肝癌干细胞特征的细胞亚群的方法。**方法:**采用成球培养法利用肿瘤干细胞样细胞(cancer stem cell, CSC)分化培养基对肝癌 Huh7 细胞进行富集培养,获得的干细胞样细胞于体外进一步扩增获得肝癌干细胞球。流式细胞术检测 Huh7 干细胞样细胞表面肿瘤干细胞标志物 EpCAM、CD90 和 CD133 的表达,平板克隆集落形成实验和裸鼠成瘤实验分别检测 Huh7 细胞和 Huh7 干细胞样细胞的克隆集落形成能力、体内成瘤能力。**结果:**Huh7 细胞成球培养 3~7 d 后即可形成肝癌干细胞样细胞球,获得的干细胞样细胞具有自我更新和增殖能力,其 EpCAM 阳性细胞比例较 Huh7 细胞明显增加[(99.6% ± 0.31)% vs (0.12% ± 0.05)% , $P < 0.01$],但两种细胞 CD90[(0.11% ± 0.06)% vs (0.09% ± 0.07)% , $P > 0.05$]和 CD133[(0.17% ± 0.08)% vs (0.15% ± 0.05)% , $P > 0.05$]表达差异无统计学意义。Huh7 干细胞样细胞克隆集落形成数量明显多于 Huh7 细胞[(188.67 ± 12.5) vs (79 ± 16.7)个, $P < 0.01$];当接种量为 5×10^4 个细胞时,与接种 Huh7 细胞的对照裸鼠相比,接种 Huh7 干细胞样细胞的裸鼠成瘤时间更短(11 vs 30 d),成瘤率更高(100% vs 16.67%);接种 5×10^5 数量级的细胞时,实验组成瘤体积[(171.90 ± 10.94) vs (86.39 ± 11.21)mm³ , $P < 0.01$]和瘤体质量[(2.98 ± 0.82) vs (0.32 ± 0.17)g, $P < 0.01$]均明显大于对照组。**结论:**利用成球培养法能够从 Huh7 肝癌细胞系中富集培养获得 Huh7 肝癌干细胞,其具有比 Huh7 细胞更强的成瘤能力。

[关键词] 肝癌;肿瘤干细胞样细胞;Huh7 细胞系;富集;培养

[中图分类号] R735.7;R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)06-0690-06

Culture and identification of liver cancer stem cell-like Huh7 cells

Zhang Tao, Li Dong[▲], Qi Zhongchun, Peng Jingjing, Chen Tao, Tan Yong, Zhou Jinjun, Xu Tao, Fu Zengqiang, Liu Yu, Li Hua (Cancer Diagnosis and Treatment Centre, Military District General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu 810063, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:**To build a method for enrichment, culture and identification of a cell subset which has the characteristics of liver cancer stem cells (CSC) *in vivo*. **Methods:** Huh7 liver cancer cells were subjected to enrichment culture in spheric culture condition with cancer stem cell enrichment medium to obtain liver cancer stem cell-like cells. The stem cell-like cells were continuously cultured and proliferated to form liver cancer stem cell sphere *in vitro*. Flow cytometry assay was performed to detect the expression of the bio-marker moleculars of CSC such as EpCAM (also named CD326), CD90 and CD133. Colony formation assay and tumorigenicity experiments in nude mice were used to detect the colony formation abilities and tumorigenicity of Huh7 cells and Huh7 stem cell-like cells, respectively. **Results:** After enrichment culture for 3-7 days, Huh7 cells formed cell spheres. The liver cancer stem cell-like sphere-forming cells exhibited self-renewal ability and multiplication capacity. The proportion of EpCAM positive cells was significantly increased

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81101634)、四川省科技厅基金资助项目(No. 2012SZ0058)、四川省卫生厅科研课题资助项目(No. 110472、110478)和成都军区医药科技“十二五”重点课题资助项目(No. B12018)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81101634), the Scientific Research Foundation of the Science and Technology Bureau of Sichuan Province(No. 2012SZ0058), the Scientific Research Project of the Health Bureau of Sichuan Province(No. 110472, 110478), and the Key Project of Medical Science and Technology of Chengdu Military Region during the 12th Five-Year Plan (No. B12018)

[作者简介] 张涛(1963-),男,四川省内江市人,硕士,主要从事肝癌基础及临床研究,E-mail:zhangtao269@126.com;李东(1981-),男,四川省绵阳市人,博士,主要从事肝癌干细胞功能研究,E-mail:lidongsince1981@aliyun.com。▲为共同第一作者

[通信作者] 张涛(Zhang Tao, corresponding author),E-mail: zhangtao269@126.com

compared to Huh7 cells ($[99.6\% \pm 0.31\%]$ vs $[0.12\% \pm 0.05\%]$, $P < 0.01$). However, there is no significant difference in the expression of CD90 ($[0.11\% \pm 0.06\%]$ vs $[0.09\% \pm 0.07\%]$, $P > 0.05$) and CD 133 ($[0.17\% \pm 0.08\%]$ vs $[0.15\% \pm 0.05\%]$, $P > 0.05$) between the Huh7 cells and sphere-forming cells. The number of colonies formed by enriched sphere-forming cells was significantly more than that formed by Huh7 cells ($[188.67 \pm 12.5]$ vs $[79 \pm 16.7]$, $P < 0.01$). Compared with the nude mice inoculation of Huh7 cells in the control group, tumor-forming time of nude mice inoculation of Huh7 stem cell-like cells in the experimental group was obviously shorter (11 vs 30 d), and showed a higher ratio of tumor formation (100% vs 16.67%) when all the mice of two groups were seeded with 5×10^4 cells. Both tumor volume ($[171.90 \pm 10.94]$ vs $[86.39 \pm 11.21]$ mm³, $P < 0.01$) and weight ($[2.98 \pm 0.82]$ vs $[0.32 \pm 0.17]$ g, $P < 0.01$) of nude mice in the experimental group was respectively bigger and heavier than that of the control group when the seeding cell number was 5×10^5 cells. **Conclusion:** Liver cancer stem cell-like cells could be enriched and transformed from Huh7 cells with sphere-forming culture method *in vitro*, and these cells have more powerful tumorigenicity than Huh7 cells do.

[**Key words**] hepatocellular carcinoma; cancer stem cell-like cells; Huh7 cell line; enrichment; culture

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(6): 690-695]

肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)在维持肿瘤生长方面发挥了关键性作用^[1-3],并且较其他分化程度更高的癌细胞对放化疗具有更强的抵抗力,是导致肿瘤复发、转移和耐药性产生的关键所在^[4,6]。目前,利用侧群细胞(sidepopulation cells, SP)分离技术、流式细胞术(fluorescence-activated cell sorting, FACS)以及免疫磁珠细胞分选法(magnetic-activated cell sorting, MACS)等方法已经从白血病、淋巴瘤和结肠癌等肿瘤细胞和组织中分离获得了相应的肿瘤干细胞样细胞,并验证了其肿瘤生物学特性和功能,为肿瘤干细胞样细胞的存在提供了重要证据^[7-9]。肿瘤干细胞标志分子是鉴别和分离肿瘤干细胞重要的实验依据和主要的方法学基础,在肝癌细胞组织中,利用EpCAM(CD326)、CD133、CD90、OV6、ABCG2等肿瘤干细胞标志物已经分离和鉴定了具有较强的体外克隆形成及体内成瘤能力的肝癌细胞亚群^[10-12]。然而,目前不仅对肝癌干细胞特异性标志分子存在争议,肝癌肿瘤干细胞的分离和体外扩增培养方法也尚不成熟。本研究采用肝癌干细胞分化培养基的成球培养法从人肝癌细胞系Huh7中富集培养并体外扩增具有肿瘤干细胞特性的肝癌细胞亚群,旨在建立一种有效的体外富集、扩增并鉴定具有肝癌干细胞特征的细胞亚群方法,为进一步研究肝癌干细胞的肿瘤生物学功能奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株和主要试剂

Huh7肝癌细胞购自四川大学华西医学院细胞中心。胎牛血清购自美国Invitrogen公司,高糖DMEM培养基购自美国Hyclone公司,B27和低糖

DMEM-F12均购自美国Gibco公司,0.4%BSA购自美国MP公司,ACCUTASE™细胞消化液购自Gibco公司,EGF、bFGF均购自美国Peprotech公司,PE-EpCAM抗体、FITC-CD90抗体和FITC-CD133抗体均购自美国Santa Cruz公司,CD133抗体购自德国美天旎公司,BALB/c裸鼠购自成都达硕实验动物有限公司(动物合格证号:0000346),饲养于成都医学院动物实验中心清洁级动物饲养室。

1.2 Huh7干细胞样细胞的成球培养

常规培养Huh7细胞至对数生长期(70%~90%汇合),弃掉培养基,用PBS清洗3次。胰酶消化3 min,以含10%胎牛血清的高糖DMEM培养基终止消化,吹打成单个细胞,PBS洗2次。低糖DMEM-F12培养基内加入B27(1:50)、0.4%BSA、EGF(终质量浓度20 ng/ml)和bFGF(终质量浓度20 ng/ml),获得肝癌干细胞分化培养基。利用上述培养基将Huh7细胞密度调整为1 000个/ml,接种到玻璃培养瓶中,37℃、5%CO₂培养箱内培养5~7 d。分别于第1、3、5和7天光镜下(10×)观察细胞形态,同时利用ACCUTASE™消化细胞,再以1 000个/ml密度接种到玻璃培养瓶中。反复3次以上培养得到肝癌干细胞样细胞球用于后续实验。

1.3 流式细胞术检测Huh7干细胞样细胞表面EpCAM(CD326)、CD90和CD133的表达

取成球的Huh7肝癌干细胞用ACCUTASE™细胞消化液消化,同时取Huh7细胞用胰酶消化,PBS洗涤2次并重悬,吹打成单个细胞,各取 3.0×10^5 个细胞分装至3个EP管内,分别用于该两种细胞的实验组、对照组及空白对照组实验。400×g离心5 min,弃上清,50 μl PBS重悬。实验组加入PE-EpCAM抗体,对

照组仅加入 PE, 空白对照组细胞不做处理, 所有 EP 管常温避光孵育 30 min 后用 1 ml PBS 洗涤 2 次; 取 200 μ l PBS 重悬细胞移入 96 孔板, 流式细胞术检测细胞表面 EpCAM 的表达。重复上述步骤; 取 FITC-CD90 抗体或 FITC-CD133 抗体, 流式细胞术检测细胞表面 CD90 和 CD133 的表达。

1.4 平板克隆集落形成实验检测细胞的集落形成能力

将贴壁生长的 Huh7 细胞和从 Huh7 干细胞样细胞球消化成单个细胞, 流式细胞仪计细胞个数, 保证活细胞数 >95%, 用 PBS 调整细胞密度至 2.0×10^4 个/ml; 再次计数, 保证细胞计数准确及两种细胞的活细胞密度一致。按 2 ml/孔向 6 孔板中加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基。细胞球组每孔加入 20 μ l 细胞球的单细胞悬液, 癌细胞组每孔加入 20 μ l Huh7 单细胞悬液, 每组设 2 个复孔。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养, 每 5 d 换液 1 次。10 d 后, 弃掉培养基, 用 PBS 清洗 3 次, 加 4% 多聚甲醛 1 ml/孔, 固定 30 min 后弃掉多聚甲醛, 室温风干, 加入结晶紫溶液 1 ml/孔, 室温染色 10 min。自来水轻轻冲掉染液, 于 40 倍显微镜下观测并拍照计数克隆集落形成数量。

1.5 裸鼠成瘤实验检测 Huh7 干细胞样细胞的体外成瘤能力

取 3 周龄 BALB/c 裸鼠共 72 只, 随机数字表法随机分成 2 组, 实验组接种 Huh7 干细胞样细胞, 对照组接种 Huh7 细胞。两组裸鼠分别接种 5×10^2 、 5×10^3 、 1×10^4 、 5×10^4 、 1×10^5 及 5×10^5 个细胞, 每个数量接种 6 只裸鼠, 接种应保证有 98% 以上的活细胞, 接种部位为裸鼠中左侧腋背部皮下(注意切勿注射到血管、肌内或者皮内, 且勿用力按压以防注射液体渗漏)。注射后 2 d 起观察肿瘤形成情况, 待瘤块形成后(肿块直径大于 0.5 mm), 每 5 d 测量一次肿瘤体积[$V = a \times b^2/2$ (a 为长径, b 为短径)], 每 2 d 测量一次裸鼠体质量, 连续 3 周。21 d 后处死裸鼠, 剥取肿瘤称重、测量瘤体积。

1.6 统计学处理

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS13.0 统计软件分析, 组间比较采用配对 t 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 干细胞成球培养获得 Huh7 细胞球

利用干细胞样细胞成球培养法培养后, 显微镜下可以观察到, 第 1 天 Huh7 细胞由梭形或多边型

的细胞形态逐渐转变为由圆球形细胞, 并开始相互聚集, 第 3 天已有细胞球团形成, 5~7 d 后细胞球团形态更加清晰, 数量更多(图 1)。并且, 细胞球团经消化成为单个细胞后, 单独培养仍可形成细胞球团, 表明富集得到的 Huh7 细胞球具有自我更新和增殖能力(图 2)。

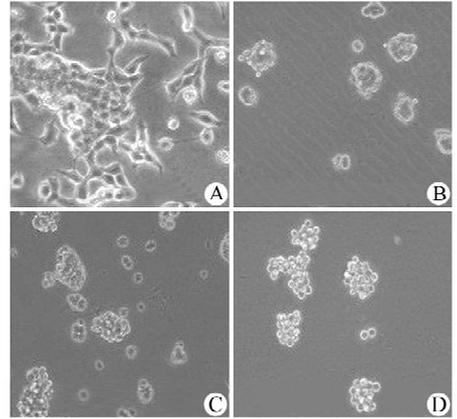


图 1 成球培养获得 Huh7 干细胞样细胞球($\times 10$)

Fig. 1 Sphere-forming stem-like Huh7 cell populations formed in spheric culture condition ($\times 10$)

A: Day 1; B: Day 3; C: Day 5; D: Day 7

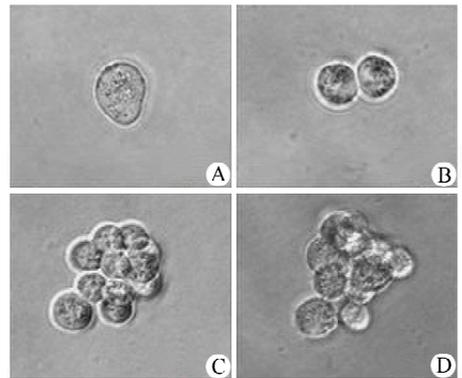


图 2 单个 Huh7 干细胞样细胞培养获得干细胞样细胞球($\times 40$)

Fig. 2 Generation of sphere-forming stem-like cell populations from a single stem cell-like Huh7 cell ($\times 40$)

A: Day 1; B: Day 3; C: Day 5; D: Day 7

2.2 成球培养后 Huh7 干细胞样细胞 EpCAM 表达显著升高

流式细胞术检测结果(图 3)显示, 培养后的 Huh7 干细胞样细胞 EpCAM 阳性细胞比例显著高于普通培养的 Huh7 细胞[(99.6 ± 0.31)% vs (0.12 ± 0.05)%, $P < 0.01$], (图 3A), 两种细胞表

面 CD90[(0.11 ± 0.06)% vs (0.09 ± 0.07)% , $P > 0.05$] (图 3B) 和 CD133[(0.17 ± 0.08)% vs (0.15 ± 0.05)% , $P > 0.05$] (图 3C), 其表达差异无统计学意义。

(86.39 ± 11.21)mm³, $P < 0.01$], 瘤体质量也明显大于对照组[(2.98 ± 0.82)vs (0.32 ± 0.17)g, $P < 0.01$]。

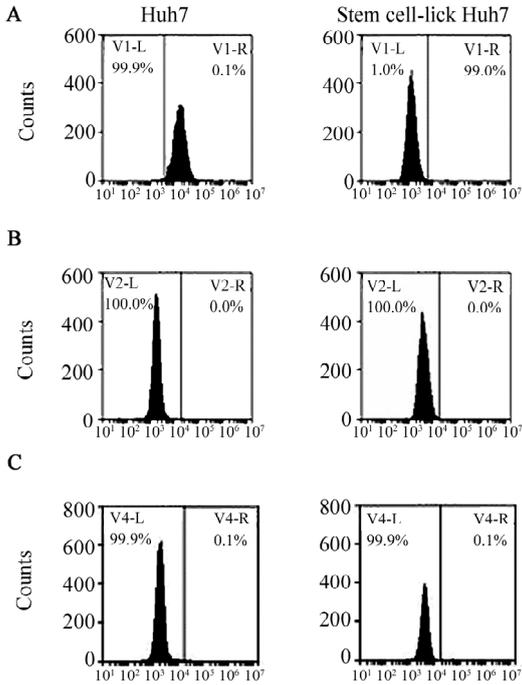


图 3 Huh7 细胞及 Huh7 干细胞样细胞中 EpCAM、CD90 和 CD133 的表达

Fig. 3 Expressions of EpCAM, CD90 and CD133 in Huh7 cells and stem cell-like Huh7 cells

A: EpCAM; B: CD90; C: CD133

2.3 成球培养后 Huh7 干细胞样细胞具有更强的克隆集落形成能力

光镜下计数成球细胞组和癌细胞组克隆集落形成数量,结果(图 4)显示,两组单细胞悬液培养 10 d 后均可观察到克隆集落的形成,Huh7 干细胞样细胞克隆集落形成数量明显多于 Huh7 细胞[(188.67 ± 12.50)vs(79.00 ± 16.72)个, $P < 0.01$],表明成球培养后肝癌干细胞样细胞的克隆集落形成能力明显增强。

2.4 成球培养后肝癌干细胞成瘤能力明显增强

裸鼠体内成瘤实验结果(图 5、表 1)显示,实验组接种 5×10^4 个细胞的裸鼠可全部成瘤 ($n = 6$),对照组需接种 5×10^5 个细胞方可全部成瘤。接种 5×10^4 个细胞时,实验组裸鼠成瘤时间为 11 d,明显短于对照组的 30 d。接种 5×10^5 个细胞时,实验组肿瘤体积明显大于对照组[(171.90 ± 10.94) vs

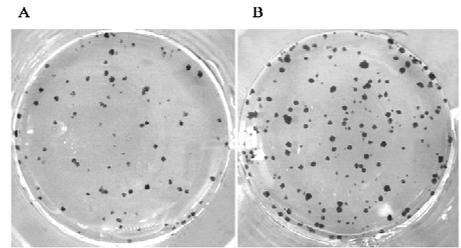


图 4 Huh7 细胞和 Huh7 干细胞样细胞的体外克隆集落形成能力 (× 10)

Fig. 4 Colony formation ability of Huh7 cells and stem cell-like Huh7 cells *in vitro* (× 10)

A: Formate by Huh7 cells; B: Formated by stem cell-like Huh7 cells

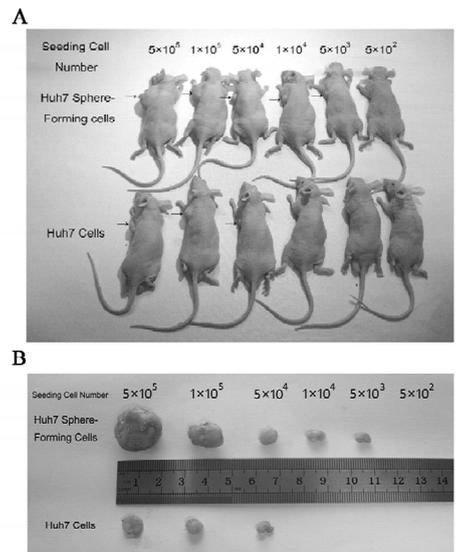


图 5 Huh7 干细胞样细胞裸鼠体内成瘤能力强于 Huh7 细胞

Fig. 5 The tumorigenicity of stem cell-like Huh7 cells was higher than that of Huh7 cells *in vivo*

A: Nude mice; B: Tumor mass

3 讨论

肝癌干细胞传统的分离方法如侧群细胞(Side population, SP)分离法、流式细胞分离法和免疫磁珠分离法均存在一定不足。侧群细胞染色分离过程中,非 SP 细胞可能因为 Hoechst33342 染料的细胞毒作用而影响其成瘤能力,从而使人们对分离 SP 细胞作为肝癌干细胞亚群提出了质疑^[7]。利用目前已知的肿瘤干细胞样细胞标志分子 EpCAM、CD90、

CD133、OV6 等, 采用流式细胞分选或免疫磁珠分选的方法, 虽然能够分选获得高纯度的阳性细胞亚群^[12-13], 但存在获得细胞数量少、操作繁琐、细胞污

染概率大和成本昂贵等不足, 在一定程度上限制了该方法的应用。

表 1 Huh7 干细胞样细胞裸鼠体内成瘤能力强于 Huh7 细胞

Tab. 1 The tumorigenicity of stem cell-like Huh7 cells was higher than that of Huh7 cells *in vivo*

Cell type	Inoculation amount	Tumor incidence [n(%)]	Latency (t/d)	Tumor volume (V/mm ³)	Tumor mass (m/g)
Stem cell-like Huh7 cells	5 × 10 ²	0(0%)	/	/	/
	5 × 10 ³	2(33.33%)	34	28.16 ± 3.54	0.07 ± 0.02
	1 × 10 ⁴	4(66.67%)	27	43.30 ± 5.27	0.20 ± 0.08
	5 × 10 ⁴	6(100.00%)	11	57.14 ± 5.44 *	0.24 ± 0.12 *
	1 × 10 ⁵	6(100.00%)	7	169.33 ± 11.26 **	0.71 ± 0.17 **
	5 × 10 ⁵	6(100.00%)	7	171.90 ± 10.94 **	2.98 ± 0.82 **
Huh7 cells	5 × 10 ²	0(0%)	/	/	/
	5 × 10 ³	0(0%)	/	/	/
	1 × 10 ⁴	0(0%)	/	/	/
	5 × 10 ⁴	1(16.67%)	30	37.08 ± 6.26	0.08 ± 0.06
	1 × 10 ⁵	4(66.67%)	10	50.65 ± 8.34	0.18 ± 0.08
	5 × 10 ⁵	6(100.00%)	7	86.39 ± 11.21	0.32 ± 0.17

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Huh7 cells

1996 年, Weiss 等^[14]发现, 神经细胞可以在悬浮条件下保持未分化状态, 形成具有多潜能的神经细胞球, 在体外具有神经干细胞样细胞特征。随后, 这种利用干细胞样细胞条件培养基进行细胞球培养的方法逐步应用于脑胶质瘤、乳腺癌、黑色素瘤等肿瘤干细胞样细胞的富集培养。利用球培养法对肝癌干细胞进行富集和培养近年来初步建立和应用, 但是目前对于利用该培养法获得的肝癌干细胞的标志分子表达和肿瘤生物学活性方面的报道并不一致。例如, Cao 等^[15]报道, 利用球培养法从肝癌 PLC/PRF/5 细胞系中富集培养获得具有肿瘤干细胞样细胞特性的肝癌细胞亚群, 并验证了这些细胞具有更强的自我更新能力、增殖能力、耐药性和成瘤性, 然而, 利用 Western blotting 法检测肿瘤干细胞标志分子表达时发现, Oct3/4、OV6、EpCAM、CD133 和 CD44 表达均显著上调。本研究也检测了富集培养前、后的 Huh7 细胞 EpCAM、CD90 和 CD133 三种主要的肿瘤干细胞标志分子的表达情况。结果发现, Huh7 细胞几乎无 EpCAM、CD90 和 CD133 的表达, 而经过球培养法富集培养后获得的干细胞样细胞的 EpCAM 阳性比例高达 99% 以上, 而 CD90 和 CD133

的表达均无明显变化。这些研究结果差异可能与肝癌细胞类型、细胞株传代代数、培养方法和条件的不同有密切关系。一些研究^[16]已经报道, CD133 在肝癌 Hep3B 细胞中的表达已高达 90%, 而在 HepG2、MHCC97 等肝癌细胞系中表达很低或无表达。另外一些研究^[17-19]还发现, EpCAM⁺ 和 EpCAM⁻ 的 Huh7 肝癌细胞中 CD133 表达并无明显差异, 而只有 EpCAM 阳性的细胞具有成瘤能力; CD90 则只在 EpCAM 和 AFP 双阴性的细胞中表达。这些研究都表明, 目前肿瘤干细胞标志分子的表达在肝癌干细胞分离和鉴别中虽然具有重要的意义, 然而由于细胞类型、传代代数和培养方法等不同, 可能造成肝癌干细胞标志分子的表达情况并不相同。因此, 利用某一种或某一组肿瘤干细胞标志分子来判断肝癌干细胞的特性并不适用和准确, 更为重要的判别方法可能取决于分离或富集培养获得的肿瘤干细胞样细胞的肿瘤生物学功能, 包括自我更新能力、克隆形成能力和成瘤性等。

本研究初步探讨了利用球培养法从 Huh7 细胞中富集培养获得肝癌干细胞球, 并证明富集培养的肝癌干细胞样细胞具有自我更新能力。富集培养的

肝癌干细胞样细胞 EpCAM 表达显著增加,而 CD90 和 CD133 的表达无明显变化;克隆集落形成能力和成瘤能力均较 Huh7 细胞明显增强。因此,利用肝癌干细胞条件培养基进行球培养能够从普通 Huh7 肝癌细胞中获得具有肝癌干细胞特性的细胞亚群,为进一步研究肝癌干细胞的肿瘤生物学活性和功能奠定了实验基础。

[参考文献]

- [1] Valent P, Bonnet D, De Maria R, et al. Cancer stem cell definitions and terminology: The devil is in the details [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(11): 767-775.
- [2] Brabletz T. EMT and MET in metastasis: Where are the cancer stem cells? [J]. *Cancer Cell*, 2012, 22(6): 699-701.
- [3] Piao LS, Hur W, Kim TK, et al. CD133(+) liver cancer stem cells modulate radioresistance in human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2012, 315(2): 129-137.
- [4] Shekhani MT, Jayanthi AS, Maddodi N et al. Cancer stem cells and tumor transdifferentiation: Implications for novel therapeutic strategies [J]. *Am J Stem Cells*, 2013, 2(1): 52-61.
- [5] Yamashita T, Wang XW. Cancer stem cells in the development of liver cancer [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(5): 1911-1918.
- [6] Singh SR. Gastric cancer stem cells: A novel therapeutic target [J]. *Cancer Lett*, 2013, 338(1): 110-119.
- [7] Chiba T, Kita K, Zheng YW et al. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties [J]. *Hepatology*, 2006, 44(1): 240-251.
- [8] Curley MD, Therrien VA, Cummings CL et al. CD133 expression defines a tumor initiating cell population in primary human ovarian cancer [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(12): 2875-2883.
- [9] Terris B, Cavard C, Perret C. EpCAM, a new marker for cancer stem cells in hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2010, 52

(2): 280-281.

- [10] Chen Y, Yu D, Zhang H, et al. CD133(+)EpCAM(+) phenotype possesses more characteristics of tumor initiating cells in hepatocellular carcinoma Huh7 cells [J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(7): 992-1004.
- [11] Tomuleasa C, Soritau O, Rus-Ciuca D, et al. Isolation and characterization of hepatic cancer cells with stem-like properties from hepatocellular carcinoma [J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2010, 19(1): 61-67.
- [12] 单魁中, 华海清. 肝癌干细胞的研究进展 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2012, 17(3): 272-276.
- [13] 张伟, 陈孝平. 肝癌干细胞的研究进展 [J]. *临床外科杂志*, 2008, 16(9): 637-639.
- [14] Weiss S, Dunne C, Hewson J, et al. Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis [J]. *J Neurosci*, 1996, 16(23): 7599-7609.
- [15] Cao L, Zhou Y, Zhai B, et al. Sphere-forming cell subpopulations with cancer stem cell properties in human hepatoma cell lines [J]. *BMC Gastroenterol*, 2011, 14(11): 71.
- [16] 徐文, 曹璐, 殷正丰. 肝癌干细胞研究进展与方向 [J]. *癌症*, 2009, 28(9): 1004-1008.
- [17] Yamashita T, Honda M, Nakamoto Y, et al. Discrete nature of EpCAM(+) and CD90(+) cancer stem cells in human hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2013, 57(4): 1484-1497.
- [18] Yamashita T, Ji J, Budhu A, et al. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features [J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(3): 1012-1024.
- [19] Ji J, Yamashita T, Budhu A et al. Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells [J]. *Hepatology*, 2009, 50(2): 472-480.

[收稿日期] 2013 - 06 - 26

[修回日期] 2013 - 09 - 25

[本文编辑] 黄静怡

· 简 讯 ·

本刊主编曹雪涛院士当选德国国家科学院院士

近日,德国国家科学院院长致函我国医学免疫学国家重点实验室主任曹雪涛教授,祝贺其当选德国科学院院士。

德国科学院起源于 1652 年成立的利奥波第那科学院(Leopoldina),已有 350 多年历史。2008 年 7 月 14 日,德国政府将其更名为德国国家科学院(German National Academy of Sciences)。目前德国国家科学院由 1 400 多位院士组成,先后有 157 位诺贝尔奖获得者为德国国家科学院院士。

自 2005 年中科院院士路甬祥、卢柯当选德国科学院外籍院士至今,我国大陆目前一共有 7 位学者当选德国国家科学院院士,包括 2007 年当选的上海交通大学张杰教授(中科院院士)、2011 年当选的浙江大学来茂德教授、2012 年当选的深圳华大基因研究院杨焕明教授(中科院院士)、中国农业科学院李家洋教授(中科院院士)和今年当选的曹雪涛教授(中国工程院院士)。

曹雪涛教授是著名的免疫学家,在天然免疫与免疫调控的基础研究、疾病免疫治疗的转化与应用研究方面取得了系统性创新性成果,以通讯作者身份在 *Cell*、*Nature Immunol*、*Cancer Cell*、*Immunity*、*PNAS* 等杂志发表 SCI 论文 212 篇,获得国家发明专利 10 项。2006 年创建医学免疫学国家重点实验室并担任主任。2005 年 41 岁时当选中国工程院院士,目前是中国免疫学理事长、亚洲大洋洲地区免疫学会联盟主席、全球慢性疾病防控联盟候任主席。现担任中国医学科学院院长。

此次曹雪涛院士当选德国科学院院士极大地提升了我国免疫学研究在国际学术界的影响力,也标志着我国免疫学的发展受到了国际学术界的高度关注和认可。

(本刊编辑部)