

· 综 述 ·

头颈部鳞癌肿瘤干细胞的研究进展*

王景涛 综述, 季 平[△] 审校
(重庆医科大学附属口腔医院 400016)

关键词: 肿瘤干细胞; 抗原, CD44; 头颈部鳞癌

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2011. 02. 039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)02-0185-03

鳞癌占口腔颌面部恶性肿瘤的 90%^[1], 尽管在肿瘤学和手术学方面取得了巨大的进展, 但是头颈部鳞癌的复发率和病死率仍然居高不下。近年来随着对肿瘤研究的不断发展, 研究者发现某些肿瘤细胞与干细胞具有相似的生长调控机制, 肿瘤细胞中也存在等级现象和异质性, 由此提出了肿瘤干细胞的概念, 也称之为癌干细胞^[2]。目前对肿瘤干细胞的研究越来越多, 并在多种器官的肿瘤中已证实了肿瘤干细胞的存在。本文将对头颈部鳞癌肿瘤干细胞的研究进展作一综述。

1 干细胞与肿瘤干细胞

干细胞指的是具有自我更新、无限增殖及多向分化能力的细胞群体, 可分为胚胎干细胞和成体干细胞。当机体新陈代谢受到外伤、疾病等损伤时, 这些干细胞被激活, 并按照发育途径通过分裂而产生分化细胞, 替代衰老死亡或损伤的细胞。

干细胞的研究是从造血干细胞开始的。1961 年 Till 和 McCulloch 利用小鼠脾结节实验技术首次证实造血干细胞的存在, 并描述了造血干细胞的生物学性质, 即具有自我更新能力和多向分化的潜能。这也是目前认为的干细胞的基本特征^[3]。直到 1997 年 Dick 实验室首次分离到急性白血病干细胞, 肿瘤干细胞的研究才逐渐升温。Reya 等^[2] 在 2001 年提出肿瘤干细胞学说, 认为在肿瘤组织中存在极少量肿瘤细胞充当干细胞的角色, 具有无限增生的潜能, 在启动肿瘤形成和生长中起着决定性的作用。自此根据肿瘤干细胞学说, 众多学者开始关注肿瘤干细胞领域, 开始寻找各种肿瘤中的肿瘤干细胞。但是由于实体瘤的特殊性, 直到 2003 年 Al-Hajj 等^[4] 在乳腺癌中发现了表型为 CD44⁺/CD24⁻ 的一群细胞具有肿瘤干细胞的各特性。这是第一次在实体瘤中发现了肿瘤干细胞, 并鉴定了其生物学特性, 为人类研究肿瘤并最终治愈肿瘤打开了新的一页。Taga^[5] 和 Patrawala 等^[6] 研究发现大多数肿瘤细胞系中存在少数侧群 (side population, SP) 细胞, 体外培养的 SP 细胞具有干细胞的特性。另外, 与非 SP 细胞不同的是, 它能在裸鼠体内高效地生成移植瘤。至今研究人员已经分别从白血病^[3,7]、乳腺癌^[4] 和胶质瘤^[8-9] 中分离到具有自我更新和分化能力以及特异表面标志的肿瘤干细胞^[10-12]。由此证实了肿瘤是干细胞疾病的理念, 肿瘤具有功能异质性, 在肿瘤组织中只有一小部分肿瘤细胞才有成瘤及维持恶性显型的作用^[4], 而其余的大多数细胞, 则经过短暂的分化, 最终凋亡^[13], 即肿瘤干细胞是肿瘤生长、转移的源泉^[2]。肿瘤组织的异质性是解释肿瘤干细胞之所以具有多向分化潜能的原因^[2,14]。

干细胞之所以更有可能是肿瘤干细胞来源的原因有: (1) 干细胞在机体内存留的时间最长, 这就使其比其他的细胞更有

可能获得突变而成为肿瘤的机会^[15]; (2) 干细胞与肿瘤干细胞具有相似的表面标志物和信号传导系统^[16]; (3) 具有极强的自我复制更新能力, 能够产生与上一代完全相同的子代细胞。因此干细胞以及其祖细胞或者是具有多向分化潜能的细胞都有可能受到遗传因素、表观遗传因素影响恶性转移而成为肿瘤干细胞继而发展成为肿瘤^[17-18], 从而使肿瘤组织具有抗凋亡和对放、化疗不敏感的特性。也有学者发现祖细胞与肿瘤干细胞具有相似的表型而认为祖细胞也可能是肿瘤干细胞的来源^[19], 同样也有学者认为去分化的细胞也有可能因各种原因而再次激活干细胞的程序, 从而获得祖细胞或成体干细胞自我更新和无限增殖能力, 进而成为肿瘤干细胞来源^[20-21]。

而干细胞与肿瘤干细胞两者也有本质的区别, 因此关于肿瘤干细胞来源还需进一步研究和验证^[22-23]。Kim 等^[24] 通过比较正常复层鳞状上皮组织中干细胞与鳞癌组织中干细胞的不同发现了一些在正常组织中表达的标志物, 而在鳞癌组织的干细胞中不表达。在初始肿瘤细胞中其加强分化作用和低分化有关的富含亮氨酸重复序列的免疫球蛋白样结构域 (leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 1, LRIG 1)、微管结合蛋白 4 (microtubule associated protein 4, MAP4) 成下调趋势, 而 MCSP (一种易变的细胞表面糖原) 呈上调趋势, 揭示了肿瘤细胞打破了原来在正常干细胞调节控制下的稳定状态, 并且拮抗了那些维持干细胞处于静止期的因素, 这也成为肿瘤组织来源于正常干细胞的佐证。因此对于干细胞与肿瘤干细胞关系和机制的研究, 需要寻找肿瘤干细胞与干细胞的不同表面标志物, 并利用特异性标志物为手段在杀伤肿瘤干细胞的同时也要减少成体干细胞的损伤, 而不妨碍干细胞的正常功能。

2 头颈部鳞癌干细胞的发现

Prince 等^[25] 通过对头颈部鳞癌细胞移植到免疫缺陷小鼠体内再经过流式细胞仪分离的方法发现像其他上皮肿瘤一样, 头颈部鳞癌中也存在着是一群异质性细胞。这群表型为 CD44⁺ 的细胞群与成体干细胞性质相似, 它可能参与了头颈部鳞癌的形成。通过免疫组织化学染色发现其具有初始的细胞形态, 并且表达基底细胞标志物——细胞角蛋白 5/14 (cytokeratin 5/14, CK5/14), 而 CD44⁻ 肿瘤细胞则与分化的上皮细胞相似, 并且表达上皮细胞分化标志物——外皮蛋白。同时 CD44⁺ 细胞具有极强的克隆形成能力, 能够自我更新; 接种裸鼠后能够在裸鼠体内自我更新, 并分化成同性质的肿瘤; 通过免疫组织化学分析, 该表型的细胞在蛋白和 RNA 水平高表达 Bmi-1 基因。Bmi-1 类型在其他类型干细胞自我更新方面发挥着重要的作用。同样 Atsushi 等^[26] 发现在头颈部鳞癌实体瘤

* 基金项目: 重庆市科委自然科学基金资助项目 (CSTC, 2005DB5241); 重庆市卫生局科研基金资助项目 (2008-2-232; 052153)。

[△] 通讯作者, 电话: (023) 89035838; E-mail: jiping@cta. cq. cn。

中有一小群表型为 CD44⁺ 的细胞具有维持和使肿瘤增长的作用。通过体外迁移和侵袭实验证明其具有很强的迁移和侵袭能力,并且通过免疫化学组织染色发现其还高表达 CD133 和三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族成员 2(ABCG2),通过药物敏感性试验证明其具有抵抗化疗药物的能力,并且通过 RT-PCR 技术发现 4 种与抗化疗药物相关的基因,即 ABCB1、ABCG2、CYP2C8 和 TERT。Zhang 等^[27]也发现在口腔鳞癌细胞系中存在着这样的 SP 细胞,并发现 ABCG2、ABCB1、CD44、Oct-4、Bmi-1、NSPc1 和 CK19 在 SP 细胞中高表达。从以上研究可以看出,头颈部鳞癌中的确存在 SP 细胞。

现在虽然众多学者发现了口腔鳞癌中存在具有肿瘤干细胞特性的 SP 细胞,但是由于其缺乏特异性的标志而不能被准确的鉴定出来进而分析其生物学特性,并通过其特异性或多分子标志物来进行临床的早期诊断、治疗和评价预后。

3 头颈部鳞癌干细胞体外培养和分离方法

肿瘤干细胞既能发生对称性分裂,引起肿瘤干细胞的自我更新,也能发生非对称性分裂产生干细胞与祖细胞,后者进一步分化成后代细胞。因此如何使分选出来的干细胞只发生对称性分裂而不发生分化是一个值得深入探讨的问题。研究表明,在无血清含碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的培养液中培养头颈部鳞癌细胞可以形成微球体,并且此种微球体富含 CD44⁺ 细胞^[25]。提示通过微球体培养能成功地富集头颈部鳞癌干细胞,并成为头颈部鳞癌干细胞体外培养的一种常规方法。也有学者发现经过流式细胞仪分选出的 SP 细胞经过培养之后仍然能够产生一些 SP 细胞与非 SP 细胞,而非 SP 细胞经过同样的条件培养之后则只能产生非 SP 细胞,从某种程度上证明了具有成瘤能力的 SP 细胞是非 SP 细胞的来源^[26]。

由于肿瘤干细胞在肿瘤组织中的数量极少,因此常规从患者实体瘤中获得的肿瘤干细胞数目非常少,而且缺乏通用的形态学特征,并且至今还未找到确切可靠的头颈部鳞癌干细胞表面标志物,但是研究人员常常运用流式细胞仪从不同的癌组织中分离出了具有干细胞样的肿瘤细胞,即 SP 细胞的分离方法^[24-26]。

4 CD44 与头颈部鳞癌干细胞

Prince 等^[25]和 Atsushi 等^[26]都发现在头颈部鳞癌细胞系中存在表型为 CD44⁺ 肿瘤干细胞样 SP 细胞,而 Zhang 等^[27]最近也发现在口腔鳞癌中也存在这样的一群细胞,并且还通过 RT-PCR 发现了 CD44 在 SP 细胞中高表达,并推测 CD44 可能作为口腔鳞癌肿瘤干细胞的表面标志物。同样 Atsumi 等^[28]也发现在鳞癌细胞系 A431 中 podoplanin 和 CD44 高表达,提示其可能成为预后及治疗效果检测的指标。

但是,近年来也有学者发现 CD44s 和 CD44v6 不能区分正常的和癌变的头颈部上皮细胞,即 CD44s 和 CD44v6 不仅在头颈部大部分组织中高表达,在头颈部鳞癌中也高表达^[29]。因此 CD44s 作为头颈部鳞癌干细胞的表面标志物还需进一步研究验证。

5 展 望

头颈部鳞癌干细胞的研究对认识鳞癌的发病机制、早期诊断以及根治方法提出了新的方向。头颈部鳞癌干细胞的研究刚刚起步,与其相关的细胞表面标志物虽有报道但其缺乏特异性。本文综述了头颈部鳞癌干细胞研究的新进展,随着人们对肿瘤干细胞生物学特性及其调控机制认识的不断深入,通过改

变肿瘤干细胞的微环境,改变其内部异常的信号传导从而诱导其向正常干细胞转化;通过开发出调节肿瘤干细胞的分子制剂并将其应用于肿瘤治疗,有望达到根治肿瘤的目的;通过寻找正常干细胞与肿瘤干细胞不同的信号传导途径或者能引起不同效应的同一信号传导途径对于靶向杀伤肿瘤干细胞而不损伤正常干细胞、最终靶向治疗肿瘤干细胞具有重要的意义。

参考文献:

- [1] Coleman JJ, Sultan MR. Tumors of the head and neck. In: Schwartz SI, editor. Principles of surgery [M]. 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1999: 601-605.
- [2] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells [J]. Nature, 2001, 414 (6859): 105-111.
- [3] Brian JP, Huntly, Gary GD. Leukaemia stem cells and the evolution of cancer-stem-cell research [J]. Nature Reviews Cancer, 2005, 5 (4): 311-321.
- [4] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hemander A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100 (7): 3983-3988.
- [5] Taga T. Identification of cancer stem cells in the "side population" [J]. Gan Kagaku Ryoho, 2006, 33 (3): 295-299.
- [6] Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, et al. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas ABCG2⁺ and ABCG2⁻ cancer cells are similarly tumorigenic [J]. Cancer Res, 2005, 65 (14): 6207-6219.
- [7] Neering SJ, Bushnell T, Sozer S, et al. Leukemia stem cells in a genetically defined murine model of blast-crisis CML [J]. Blood, 2007, 110 (7): 2578-2585.
- [8] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells [J]. Nature, 2004, 432 (7015): 396-401.
- [9] 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.
- [10] Phillips TM, McBride WH, Pajon KF. The response of CD24 (-/low)/CD44⁺ breast cancer-initiating cells to radiation [J]. J Natl Cancer Inst, 2006, 24 (98): 1777-1785.
- [11] 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, 12 (2): 65-67.
- [12] Lotem J, Sachs L. Epigenetics and the plasticity of differentiation in normal and cancer stem cells [J]. Oncogene, 2006, 25 (59): 7663-7672.
- [13] Marx J. Mutant stem cells may seed cancer [J]. Science, 2003, 301 (5638): 1308-1310.
- [14] Pardo R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3 (12): 895-902.
- [15] 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.
- [16] Craig TJ. Cancer stem cell biology: from leukemia to solid tumors[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2004, 16(6): 708-712.
- [17] Klonisch T, Wiehac E, Hombach Klonisch S, et al. Cancer stem cell markers in common cancers therapeutic implications[J]. *Trends Mol Med*, 2008, 14(10): 450-460.
- [18] Gao JX, Zhou Q. Epigenetic progenitors in tumor initiation and development[J]. *Drug Discov Today: Dis Model*, 2009, 6(11): 1808-1817.
- [19] Mimeault M, Batra SK. Recent insights into the molecular mechanisms involved in aging and the malignant transformation of adult stem/progenitor cells and their therapeutic implications[J]. *Ageing Res Rev*, 2009, 8(2): 94-112.
- [20] Cho RW, Clarke MF. Recent advances in cancer stem cells[J]. *Curr Opin Genet*, 2008, 18(1): 48-53.
- [21] Polyak K, Hahn WC. Roots and stems: stem cells in cancer[J]. *Nat Med*, 2006, 12(3): 296-300.
- [22] 王彬, 杨辉. 脑肿瘤干细胞研究进展[J]. *重庆医学*, 2009, 38(2): 216-218.
- [23] 季平. 肿瘤干细胞研究进展及展望[J]. *重庆医学*, 2007, 36(4): 289-291.
- [24] Kim BJ, Judith J, Fiona MW. A stem cell gene expression profile of human squamous cell carcinomas[J]. *Cancer Letters*, 2008, 272(1): 23-31.
- [25] Prince ME, Sivanandan R, Kaczorowski A, et al. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(3): 973-978.
- [26] Atsushi O, Kazuaki C, Koichi S, et al. Expansion and characterization of cancer stem-like cells in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Oral Oncol*, 2008, 45(7): 633-639.
- [27] Zhang P, Zhang Y, Mao L, et al. Side population in oral squamous cell carcinoma possesses tumor [J]. *Cancer Lett*, 2009, 277(2): 227-234.
- [28] Atsumi N, Ishii G, Kojima M, et al. Podoplanin, a novel marker of tumor-initiating cells in human squamous cell carcinoma A431 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(1): 36-41.
- [29] Brigitte M, Olivier G. CD44s and CD44v6 expression in head and neck epithelia [J]. *PLoS ONE*, 2008, 3(10): e3360-3365.

(收稿日期: 2010-03-18 修回日期: 2010-05-09)

· 综 述 ·

Sox-Wnt 相互作用在发育和疾病发生中的作用

熊浩岚¹综述, 张庆玲^{2△}审校

(南方医科大学: 1. 第一临床医学院; 2. 病理学系, 广州 510515)

关键词: 转录因子; Wnt 信号通路; β 连环素; T 细胞转录因子类

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.02.040

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)02-0187-04

Sox 基因是一大类编码转录因子的发育相关基因家族, 其编码超过 20 种 Sox 蛋白。近年研究发现 Sox 基因与 Wnt/ β 连环素信号通路关系密切, 通过参与调节 Wnt/ β 连环素信号通路活性, 在生物发育和肿瘤发生等多种生命活动中发挥重要作用。本文总结近年国内外相关研究成果, 综合分析 Sox-Wnt 相互作用及其对 Wnt/ β 连环素信号通路的调节机制。

1 Sox 基因家族简介

Sox 基因家族参与胚胎发育、性别分化、神经发生、软骨形成以及胸腺细胞的分化等多种发育过程的调控。该基因家族的共有特征是所有编码 Sox 蛋白均具有一个由约 79 个氨基酸组成的保守序列——HMG 盒 (HMG-box), 该序列可以与 DNA 特异性结合; Sox 蛋白与其他转录因子相互作用形成复合体而发挥作用。在脊椎动物基因组中有大约 20 种不同的 Sox 基因, 根据 HMG 盒的序列同源性, 它们被分为 8 个亚族 (Sox A~H)。该家族的第一个成员是哺乳动物的性别决定基因 SRY/Sry。人类及小鼠体内已发现的 Sox 基因家族成员有 24 个。近年来研究发现 Sox 基因的突变和异常表达与多种肿瘤的发生、发展有关。由于 Sox 基因可能在肿瘤进展中起重要作用, 因而对其研究进展十分迅速。

2 Wnt 信号通路

Wnt 蛋白是一类分泌型糖蛋白, 分布在所有多细胞动物体内, 并且调节个体发育和疾病发生等许多方面。标准的 Wnt 信号通路激活 β 连环素 (β -连环蛋白), β 连环素进一步激活细胞核内的转录因子——T 细胞转录因子/淋巴增强因子 (TCF/LEF) 等从而调节在不同生命活动中的的一系列目标基因的转录。Wnt 信号必须被严格控制, 因为不适当升高的 β 连环素/TCF 活性会导致许多组织肿瘤的发生。虽然已知脊椎动物有 19 种 Wnt 蛋白和 10 种跨膜受体卷曲蛋白, 但标准 Wnt 通路的转录信号只由 β 连环素和 4 种 TCF 调节, 于是就提出了不同类型的细胞如何调节不同 Wnt 目标基因的问题。一种解释是 β 连环素和 TCF 与其他转录因子相互作用以调节其活性使目标基因的选择更容易^[1]。因此, 鉴定 β 连环素/TCFs 相关转录因子并探讨其调节机制一直是功能基因组学研究的热点之一。

3 Sox-Wnt 相互作用系统在生长发育和肿瘤发生中的作用

Sox 蛋白显然具有独立于 Wnt 的作用, 但也有很多研究证明 Sox 蛋白通过调节 Wnt 信号通路而广泛参与生长发育和疾病发生过程。很多报道证实 Sox 蛋白有抑制 Wnt 转录信号

△ 通讯作者, 电话: 13560031968; E-mail: 8911c8@126.com。