

肿瘤干细胞与肿瘤血管生成研究进展*

张华锋, 盛玉文, 姜华茂

Research and progress of cancer stem cells and tumor angiogenesis

Zhang Hua-feng, Sheng Yu-wen, Jiang Hua-mao

Abstract

BACKGROUND: Recent investigations show that there are a small part of self-renewing and multi-potent cells named as tumor stem cells. Those cells share many characteristics with somatic and embryonic stem cells and are thought to be responsible for driving tumor progression in growing list of neoplastic diseases. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an important angiogenesis factor, which can regulate endothelial proliferation, angiogenesis, permeability of blood vessel, and thrombogenesis.

OBJECTIVE: To summarize the progress of cancer stem cells and tumor angiogenesis.

METHODS: A computer-based online search was conducted in PUMMED, CNKI, and Wanfang databases with the key words of "cancer stem cells, vascular endothelial growth factor, new vascularize" in both Chinese and English from January 2000 to October 2009.

RESULTS AND CONCLUSION: Among 153 articles, there were 13 in Chinese and 140 in English. Titles and abstracts were preliminarily screened, and articles which were non-relative ($n=35$), duplicated ($n=30$), and Meta analysis ($n=57$), were excluded. A total of 31 articles were included in the final analysis. Angiogenesis regulated by multiple factors was a necessary link for tumor growth and transferring. Stem cells promoted angiogenesis, thereby promoted tumor growth and transferring. However, the modified stem cells caused the opposite effects. On the other hand, the stem cells were considered as a substance vector to localize tumor focus, in particular, it will be potential for looking for subclinical focus and distal focus.

Department of Urology Surgery, First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China

Zhang Hua-feng★, Master, Physician, Department of Urology Surgery, First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China zhanghuafeng09@yahoo.cn

Zhang HF, Sheng YW, Jiang HM. Research and progress of cancer stem cells and tumor angiogenesis. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(10):1861-1864. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Correspondence to: Sheng Yu-wen, Professor, Department of Urology Surgery, First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China shengyuwen@163.com.cn

Received: 2009-12-09
Accepted: 2010-01-07

摘要

背景: 最近研究结果证实, 肿瘤中存在一小部分肿瘤干细胞, 肿瘤干细胞兼有成体干细胞和胚胎干细胞的自我更新和多能性特征, 在肿瘤发展中起重要作用。血管内皮生长因子可调节内皮增殖、血管生成, 调节血管通透性及血栓形成。

目的: 文章就肿瘤干细胞与肿瘤血管生成的研究进展做一综述。

方法: 应用计算机检索 Pubmed 数据库(2000-01/2009-10), 以 "Cancer stem cells, Vascular endothelial growth factor, New vascularize" 为检索词; 同时应用计算机检索 CNKI 数据库(2000-01/2009-10)和万方数据库(2000-01/2009-10), 以 "肿瘤干细胞、管内皮生长因子、新生血管化" 为检索词。

结果与结论: 计算机初检得到 153 篇, 中文 13 篇, 英文 140 篇。阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与此文无关的 35 篇, 内容重复性文献 30 篇, Meta 分析 57 篇, 共保留 31 篇做进一步分析。由多种因素调控的血管新生是肿瘤生长和转移过程中的必需环节, 干细胞参与并促进肿瘤血管新生, 从而促进肿瘤的生长和转移, 而修饰后的干细胞则可以起到反向的作用。同时, 干细胞也可以作为治疗物质的载体定位肿瘤病灶, 特别是在寻找亚临床病灶及远处转移病灶方面具有潜在的优越性。

关键词: 血管内皮生长因子; 新生血管化; 细胞移植; 肿瘤干细胞; 综述文献

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.10.032

张华锋, 盛玉文, 姜华茂. 肿瘤干细胞与肿瘤血管生成研究进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(10):1861-1864. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

辽宁医学院第一附属医院泌尿外科, 辽宁省锦州市 121000

张华锋★, 男, 1979年生, 山东省临沂市人, 汉族, 2010年辽宁医学院研究生院毕业, 硕士, 医师, 主要从事泌尿系疾病方面的研究。zhanghuafeng09@yahoo.cn

通讯作者: 盛玉文, 教授, 辽宁医学院第一附属医院泌尿外科, 辽宁省锦州市 121000 shengyuwen@163.com.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2010)10-01861-04

收稿日期: 2009-12-09
修回日期: 2010-01-07 (20091209013/ZS-H)

0 引言

随着肿瘤生物学研究的不断深入, 肿瘤的临床诊断及治疗水平有了明显提高, 然而治疗后高转移及高复发仍是肿瘤临床治疗中一个亟待解决的难题, 肿瘤的发生、发展和转移的分子机制仍不清楚。近年来“肿瘤干细胞”的提出及其在这一领域取得的研究进展推动肿瘤生物学研究进入一个新的时代。

大量证据表明, 肿瘤干细胞可能在肿瘤的发生、发展和转移过程中起到关键作用。肿瘤血管的生成是一个由局部微环境、癌基因和抑癌基因等因素共同参与, 通过影响血管生成因子之间的平衡状态进行调节的复杂的病理生理过程, 文章就肿瘤干细胞与肿瘤血管生成的研究进展做一综述。

1 资料和方法

1.1 资料来源 由第一作者应用计算机进行检索。以“Cancer stem cells, Vascular endothelial growth factor, New vascularize”为检索词, 检索Medline数据库(2000-01/2009-10)。以“肿瘤干细胞血、管内皮生长因子、新生血管化”为检索词, 检索CNKI数据库(2000-01/2009-10)和万方数据库(2000-01/2009-10)。文献检索语种限制为英文和中文。

1.2 入选标准 ①文献内容与本文主题密切相关。②论点论据可靠的原创性文章。③观点明确、分析全面的文献。

1.3 质量评估 对每一篇符合纳入标准的文献进行以下几个方面的评价: ①随机分配方法。②是否采用盲法评估。③动物脱落或患者失访情况。文献筛选和质量评价由3位作者独立进行并交叉核对, 如有分歧, 则通过讨论或由第二作者协助解决。

1.4 数据的提取 计算机初检得到153文献, 中文13篇, 英文140篇。阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与此文无关的35篇, 内容重复性的研究30篇, Meta分析57篇, 共保留31篇文献进行综述。

2 结果

2.1 干细胞与肿瘤干细胞

干细胞与肿瘤干细胞的概念: 干细胞是指具有自

我更新能力和多向分化潜能的一类未分化的细胞群体。Bonnet等^[1]在研究白血病时发现, 与正常造血系统一样, 在白血病细胞内也存在着分化等级不同的细胞, 而仅有一小部分细胞保留着克隆形成的能力。实体肿瘤与白血病类似, 是个由多种类型的细胞构成的异质性的混合体。若不加以干预的话, 这个混合体可以进一步生长, 并在远处部位形成与原发肿瘤类似的继发性肿瘤。这一特性提示在白血病和实体肿瘤内存在着具有干细胞性质的细胞群, 是肿瘤生长和转移的原动力, 因此把这群细胞命名为肿瘤干细胞^[2-3]。

肿瘤干细胞的形成: Dontu等^[4]根据细胞表面标志, 利用流式细胞仪从人乳腺癌细胞中分选出ESA⁺、CD44⁺、CD24^{-low}的一群细胞, 只需200个ESA⁺、CD44⁺、CD24^{-low}细胞, 就能在NOD/ScID小鼠体内形成移植瘤, 并且可以在乳腺脂肪板内连续传代。随后采用相似的方法, 人们又陆续从多发性骨髓瘤、恶性黑色素瘤、肺癌、前列腺癌及胰腺癌中分选出肿瘤干细胞^[5]。近期研究表明, 细胞自我更新途径中的突变是肿瘤干细胞形成的重要因素, 干细胞内外环境均可引起自我更新途径的突变, 导致肿瘤干细胞的形成。干细胞的自我更新和分化能力是通过不对称分裂来保持的。所谓不对称分裂是指1个干细胞可以产生2个不同的子代细胞, 1个子细胞保存有亲本细胞的完全特性, 而另1个子细胞则不断分化形成功能性的终末细胞。任何影响不对称分裂的因素都可引起干细胞的自我更新能力的变化。在对果蝇的一项研究中发现, raps, mira, numb, or pros基因的突变可以引起异常的不对称分裂, 导致异常增高的自我更新能力并形成神经母细胞样肿瘤^[6]。MOZ-TIF2及MLL-ENL是AML相关癌基因, 其融合蛋白可赋予骨髓造血祖细胞自我更新的能力并阻止细胞分化, 单独的融合蛋白就足以将定向祖细胞转化为肿瘤干细胞^[7]。肿瘤干细胞是一种增殖特性失控、可形成肿瘤、具有干细胞特性的细胞^[8-10], 肿瘤干细胞学说认为肿瘤干细胞是形成不同分化程度肿瘤细胞和肿瘤增长、复发及转移的“起始细胞”或“动力细胞”^[11], 干细胞生存的外部环境——干细胞池也参与了肿瘤干细胞的形成, 但其作用机制还不十分明确。

肿瘤干细胞与正常干细胞具有众多相似性: ①表达类似的细胞表面标志, 两者均出现相对幼稚化的特性, 均具有Notch, Wnt, Shh等细胞信号传导途径, 作为自我更新的生长内在调节机制和通过微环境细胞间的旁分泌作用调控其功能的

外在调节机制。②均具有端粒酶活性以及扩增的端粒重复序列。研究证明端粒酶的活化启动肿瘤的发生,提示端粒酶的活化是肿瘤干细胞的生物特性之一。③相似的归巢和迁徙途径,提示肿瘤干细胞可能起源于正常的干细胞,后者通过积累突变和(或)表型改变获得不确定的增殖能力转化为肿瘤干细胞。正常干细胞存在迁移现象,它是胚胎发育时器官形成的基本过程。上皮细胞失去上皮细胞的特征而获得间充质细胞的表型,即上皮细胞间充质细胞化被认为是迁移过程的关键事件。同样,肿瘤干细胞也具有迁移性,是肿瘤侵袭性生长、浸润和转移的基础。原位的肿瘤干细胞间充质细胞化,导致肿瘤转移^[12-13]。

2.2 血管内皮生长因子与肿瘤血管生成

血管内皮生长因子和血管内皮生长因子受体家族:血管内皮生长因子是目前已知作用最强的促血管生成因子,能特异性地直接作用血管内皮细胞,引起血管内皮细胞增殖,促进血管形成^[14],被称为是作用最强、特异性最高的内皮细胞有丝分裂原。血管内皮生长因子的高表达与肿瘤患者的生存时间、早期复发、浸润及转移有关。

血管内皮生长因子家族包括结构相似的分子,如血管内皮生长因子A、血管内皮生长因子B、血管内皮生长因子C、血管内皮生长因子D和胎盘生长因子。其中血管内皮生长因子A通常被称作血管内皮生长因子,它分为血管内皮生长因子A121和血管内皮生长因子A165两个亚型。血管内皮生长因子受体家族包括血管内皮生长因子R1、血管内皮生长因子R2和血管内皮生长因子R3,它们都含有1个胞内KDR结构域。另外NRP1和NRP2也参与了血管内皮生长因子的信号转导^[15]。

血管内皮生长因子和血管内皮生长因子受体家族表达在大部分的人类肿瘤细胞中。通常认为血管内皮生长因子是通过旁分泌机制对肿瘤细胞发挥作用的,肿瘤细胞由于缺乏血管内皮生长因子受体而不能对自身分泌的血管内皮生长因子发生反应,相反参与血管生成的内皮细胞只分泌极少量的血管内皮生长因子。血管内皮生长因子还可以由多种宿主细胞产生,包括血小板、肌肉细胞和肿瘤相关间质细胞等,提示血管内皮生长因子可能是某些类型肿瘤细胞的自分泌生长因子。此外血管内皮生长因子受体不仅表达于细胞表面,也可表达于细胞内,通过细胞分泌机制促进细胞存活^[16-17]。

血管内皮生长因子与Notch-Dll4信号通路:Notch-Dll4信号通路是目前研究发现的肿瘤血管生成的又一关键机制。多种细胞表面都可以表达Notch受体,该受体家族包括Notch1, Notch2, Notch3和Notch4,这些受体与临近细胞表面的跨膜配体相结合,参与调节细胞的死亡、分化和增殖过程。血管内皮细胞分别表达Notch1和Notch4受体,以及jagged 1、Dll1和Dll4配体。在这些配体中,Dll4只表达于内皮细胞表面,血管内皮生长因子可使其上调。在小鼠实验中,仅敲除Dll4的1个等位基因,

就足以使胚胎致命,表明Notch-Dll4信号通路对胚胎的血管发育至关重要。由于Dll4在肿瘤血管的表达显著上调,因而被视为一个很有前景的药物靶点^[18]。然而令人费解的是,针对Dll4的药物包括中和性抗体实际上是提高了肿瘤的血管生成,但大多数新生血管在结构和功能上是异常的,反而显著降低了肿瘤的血流量。因此肿瘤的缺氧程度达到正常水平的7倍,从而阻碍了肿瘤的生长。显然,Dll4的上调阻止了肿瘤血管的过度生长,从而对血管内皮生长因子的促血管生成效应起到一个负反馈调节作用^[19]。

2.3 肿瘤干细胞与肿瘤血管新生 在肿瘤细胞中有一小群具有肿瘤诱发特性的肿瘤干细胞,具有促进肿瘤生长和对治疗药物产生耐药性的特点^[20]。极少数目的肿瘤干细胞的移植会导致极高的肿瘤存活率,而大量普通肿瘤细胞的移植存活率却很低。传统的化疗和其他治疗只对普通肿瘤细胞有效,而对肿瘤干细胞无效,这些特点决定了肿瘤干细胞具有很强的前血管生成功能。低剂量的节律化疗对肿瘤干细胞或具有肿瘤干细胞特点的细胞群有效,尤其与抗血管生成药如抗血管内皮生长因子R2抗体联合使用时作用更强^[21]。研究发现,肿瘤干细胞在缺氧状态下高表达血管生成因子,提示肿瘤干细胞在肿瘤发生和演进阶段有间接促血管生成作用^[22-25]。进一步研究发现,两种G蛋白偶联受体-甲酰化肽受体和趋化因子受体XCR4是肿瘤干细胞参与血管生成的重要介导分子^[26]。肿瘤干细胞还可以转化为肿瘤血管干/前体细胞直接参与血管生成,或形成无内皮状态的血管拟态(vas-culogeniemicry)直接参与肿瘤微循环^[27]。

血管新生是指内皮细胞的增生和迁移,从先前存在的血管发芽生成新的毛细血管。血管生成仅发生在胚胎早期,在此过程可以伴随血管新生胚胎形成和产后组织的正常生长,例如成年女性子宫内膜的反复重建。血管内皮祖细胞、血管内皮细胞及其分泌的促血管生长细胞因子在血管形成过程中的积极作用已成为血管再生研究的重点。Reyes等^[28]自骨髓中提取具有血管内皮祖细胞特征的成体多潜能干细胞,研究其参与肿瘤血管形成能力,结果显示成体多潜能干细胞在体外可扩增达80倍以上,经外周血管移植入机体内后,可参与肿瘤组织血管形成。Bont等^[29]应用非肥胖性糖尿病合并免疫缺陷鼠(NOD/SCID)接种非霍奇金病模型,研究CD34⁺造血干细胞对肿瘤生长的促进作用,结果显示接受静脉移植CD34⁺造血干细胞NOD/SCID鼠的肿瘤较对照组生长增加2倍,以反义PCR检测肿瘤组织中血管内皮生长因子受体2和血管生长素2显示,移植CD34⁺造血干细胞组为阳性,对照组阴性,表明CD34⁺造血干细胞移植后进入肿瘤组织并向血管内皮细胞系分化,参与肿瘤血管形成,并促进肿瘤生长。

目前在临床应用的大剂量化疗结合自体干细胞移植治疗肿瘤中,对干细胞移植的安全性提出了质疑。同时,为临床利用干细胞参与肿瘤血管形成这一特性作为治疗

物质的载体,在此基础上结合其他方法治疗肿瘤疾病提供了一定的思路。Davidoff等^[30]研究表明,骨髓来源的细胞虽然可促进肿瘤血管新生,但经过修饰可表达血管新生抑制剂,从而限制肿瘤生长。另外,Arafat等^[31]应用CD34⁺造血干细胞作为载体转染编码表达胸腺嘧啶脱氧核苷激酶非复制性疱疹单纯载体TOZ1,经体内外实验表明,转染TOZ1的CD34⁺造血干细胞结合应用ganciclovir可致99%卵巢癌细胞死亡。

3 讨论

由多种因素调控的血管新生是肿瘤生长和转移过程中的必需环节,干细胞参与并促进肿瘤血管新生,从而促进肿瘤的生长和转移,而修饰后的干细胞则可以起到反向的作用。同时,干细胞也可以作为治疗物质的载体定位肿瘤病灶,这就为临床治疗肿瘤提供了一条新的途径,特别是在寻找亚临床病灶及远处转移病灶方面具有潜在的优越性,所以深入研究肿瘤干细胞和血管新生的关系具有重要的临床意义。

4 参考文献

[1] Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia organized as a hierarchy that originates from primitive hematopoietic cell. *Nat Med.*1997;3(7): 730-737.

[2] Dou J. Being Faced with Challenges and Strategies in Investigation of Tumor Stem Cells. *Letters In Biotechnology.* 2009; 20(4):561-563.

[3] 刘虹麟, 娄晋宁. 肿瘤干细胞生物学特性的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2009, 38(6):6-8.

[4] Dontu G, Al-Hajj M, Abdullah W, et al. Stem cells in normal breast development and breast cancer. *Cell Prolif.*2003;36(suppl 1): 59-61.

[5] Spillane JB, Henderson MA. cancer stem cells: a review. *ANZ J Surg.*2007;77(6): 464-466.

[6] Caussinus E, Gonzalez C. Induction of tumor growth by altered stem-cell asymmetric division in *Drosophila melanogaster*. *Nat genet.*2005;37(10): 1027-1028.

[7] Hundy BJ, Shigematsu H, Deguchi K, et al. MOZ-TIF2, but not BCR-ABL, confers properties of leukemic stem cells to committed murine hematopoietic progenitors. *Cancer Cell.*2004;6(6): 1896-1898.

[8] Shipitsin M, Polyak K. The cancer stem cell hypothesis in search of definitions, markers, and relevance. *Lab Invest.* 2008;88(5): 459-463.

[9] Aguirre-Ghiso JA. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nat Rev Cancer.*2007;7(5): 834-846.

[10] Suva ML, Riggi N, Stehle JC, et al. Identification of Cancer Stem Cells in Ewing's Sarcoma. *Cancer Res.*2009;69(18): 1776-1781.

[11] KANG MK, HUR BI, KO MH, et al. Potential identity of multi-potential cancer stem-like subpopulation after radiation of cultured brain glioma. *BMC Neuro Sci.*2009;9(15): 1471-2202.

[12] Mani SA, Yang J, Brooks M, et al. Mesenchyme Forkhead 1(FOXC2) plays a key role in metastasis and is associated with aggressive basal-like breast cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(51): 10069-10074.

[13] Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell.* 2008; 133(11):704-715.

[14] Yu DM, Yan X, Guo DY, et al. Expressions of VEGF and nm23 protein in transitional cell carcinoma of the bladder and their clinical significance. *Acta Academiae Medicinae Militariae Tertiae.*2006;28(21):2180-2182.

[15] Pan Q, Chanthery Y, Liang WC, et al. Blocking neuropilin-1 function has an additive effect with anti-VEGF to inhibit tumor growth. *Cancer Cell.*2007;11(1):53-67.

[16] Lee S, Chen TT, Barber CL, et al. Autocrine VEGF signaling is required for vascular homeostasis. *Cell.*2007;130(4):691-703.

[17] Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell.*2007;11: 69-82.

[18] Sainson RC, Harris AL. Anti-Dll4 therapy: can we block tumour growth by increasing angiogenesis. *Trends Mol Med.*2007;13(9): 389-395.

[19] Ridgway J, Zhang G, Wu Y, et al. Inhibition of Dll4 signaling inhibits tumour growth by deregulating angiogenesis. *Nature.* 2006;444(7122):1083-1087.

[20] Bao S, Wu Q, Sathornsumetee S, et al. Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor. *Cancer Res.*2006;66(16): 7843-7848.

[21] Folkins C, Man S, Xu P, et al. Anticancer therapies combining antiangiogenic and tumor cell cytotoxic effects reduce the tumor stem-like cell fraction in glioma xenograft tumors. *Cancer Res.* 2007;67(8): 3560-3564.

[22] Bao S, Wu Q. Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor. *Cancer Res.*2006;66(16): 7843-7848.

[23] 路秀英, 李晓明. 低氧诱导因子对肿瘤干细胞作用的研究进展[J]. *医学综述*, 2008, 14(20):3081-3083.

[24] Zhou L, Wei XD, Cheng L, et al. CD133, one of the markers of cancer stem cells in Hep-2 cell. *Laryngoscope.*2007;117(3): 455-460.

[25] Kaidi A, Williams AC, Paraskeva C. Interaction between beta-catenin and HIF-1 promotes cellular adaptation to hypoxia. *Nat Cell Biol.*2007;9(2): 210-217.

[26] Hu J, Deng X, Bian X, et al. The expression of functional chemokine receptor CXCR4 is associated with the metastatic potential of human nasopharyngeal carcinoma. *Clin Cancer Res.*2005;11(13): 4658-4665.

[27] BRUNO S, BUSSOLATI B, GRANGE C, et al. CD133+ renal progenitor cells contribute to tumor angiogenesis. *Am J Orthop.* 2006;169(6): 2223-2235.

[28] Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. *J Clin Invest.*2002;109(30): 337-346.

[29] Bont ES, Guikema JE, Scherpen F, et al. Mobilized human CD34+ hematopoietic stem cells enhance tumor growth in a nonobese diabetic/severe combined immunodeficient mouse model of human non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res.*2001;61(20): 7654-7659.

[30] Davidoff AM, Ng CY, Brown P, et al. Bone marrow-derived cells contribute to tumor neovasculature and, when modified to express an angiogenesis inhibitor, can restrict tumor growth in mice. *Clin Cancer Res.*2001;7(9):2870-2879.

[31] Arafat WO, Casado E, Wang M, et al. Genetically modified CD34+ cells exert a cytotoxic bystander effect on human endothelial and cancer cells. *Clin Cancer Res.*2000;6(11):4442-4448.

来自本文课题的更多信息--

关于作者: 文章资料收集与成文为第一作者,第二作者进行审校,由第二作者对文章负责。

利益冲突: 无利益冲突。

伦理批准: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

此问题的已知信息: 肿瘤的发生与肿瘤血管生成有关,干细胞移植处于体外细胞或动物实验阶段。

本综述增加的新信息: 干细胞具有分化能力,可促进肿瘤血管新生,从而促进肿瘤的生长和转移,而修饰后的干细胞则可以起到反向作用,作为治疗物质的载体定位肿瘤病灶从而消除病灶。

临床应用的意义: 修饰后的干细胞能够抑制肿瘤的生长和转移,特别是在寻找亚临床病灶及远处转移病灶方面具有潜在的优越性。