

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.19.006 [http://www.crter.org]  
赵中甫, 樊锐太, 杨永, 孙剑瑞, 胡祥, Eileen Shen, 杨波. 脑胶质瘤中肿瘤干细胞的体外放射敏感性[J].  
中国组织工程研究, 2013, 17(19):3455-3460.

## 脑胶质瘤中肿瘤干细胞的体外放射敏感性\*\*\*○

赵中甫<sup>1,2</sup>, 樊锐太<sup>3</sup>, 杨永<sup>4</sup>, 孙剑瑞<sup>2</sup>, 胡祥<sup>5</sup>, Eileen Shen<sup>6</sup>○, 杨波<sup>2,7</sup>

- 1 许昌市中心医院神经外科, 河南省许昌市 461000
- 2 郑州大学第一附属医院神经外科, 河南省郑州市 450052
- 3 郑州大学第一附属医院放射治疗中心, 河南省郑州市 450052
- 4 唯尔克干细胞生物科技(辽宁)有限公司, 辽宁省本溪市 117003
- 5 深圳市北科细胞工程研究所, 广东省深圳市 518000
- 6 Dickinson College, Carlisle, PA 17013, U.S.A.
- 7 河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室, 河南省郑州市 450052

### 文章亮点:

- 1 用 MTT 法检测一个胶质瘤中 5 个位点, 前(额叶方向)、后(枕叶方向)、内(中线方向)、外(皮层方向)、中(瘤体中心)进行取材。
- 2 取细胞活力最强的位点扩增 3-5 代的肿瘤球细胞, 给予不同 X 射线剂量 2, 3, 5, 8, 12, 15 Gy 照射, 检测其细胞活力, 以确定最适的放疗剂量。期待为脑胶质瘤的个体化定位化放疗提供基础实验依据。

### 关键词:

干细胞; 肿瘤干细胞; 脑肿瘤干细胞; 胶质瘤; 生长因子; 放射敏感性; 放疗; 照射; 剂量; 个体化定位; 增殖活力; 省级基金

### 摘要

**背景:** 目前放疗治疗脑胶质瘤效果不理想, 可能因素有很多。

**目的:** 探讨脑胶质瘤中肿瘤干细胞的体外放射敏感性。

**方法:** 取脑胶质瘤细胞, 接种于含生长因子的无血清培养基中培养, 取细胞活力最强的位点扩增 3-5 代的肿瘤球细胞, 给予不同 X 射线剂量照射, 检测其细胞活力, 以确定最适的放疗剂量。

**结果与结论:** 胶质瘤中不同部位的肿瘤细胞增殖活力有差异; 8 Gy 以上 X 射线剂量对脑肿瘤干细胞具有显著的杀伤作用。说明脑胶质瘤具有异质性, 部位不同, 脑肿瘤干细胞增殖活力不同; 不同的放疗剂量对脑肿瘤干细胞有不同的影响。

## *In vitro* radiosensitivity of brain cancer stem cells in brain glioma

Zhao Zhong-fu<sup>1,2</sup>, Fan Rui-tai<sup>3</sup>, Yang Yong<sup>4</sup>, Sun Jian-rui<sup>2</sup>, Hu Xiang<sup>5</sup>, Eileen Shen<sup>6</sup>, Yang Bo<sup>2,7</sup>

- 1 Department of Neurosurgery, Xuchang Central Hospital, Xuchang 461000, Henan Province, China
- 2 Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
- 3 Radiotherapy Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
- 4 Wei Erke Stem Cell Biotechnology (Liaoning) Co., Ltd., Benxi 117003, Liaoning Province, China
- 5 Shenzhen Beike Cell Engineering Institute, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China
- 6 Dickinson College, Carlisle, PA 17013, U.S.A
- 7 Open Laboratory of Key Clinical Disciplines of Henan Province Higher Education, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

赵中甫★, 男, 1968 年生, 河南省开封市人, 汉族, 2007 年郑州大学医学院毕业, 硕士, 主任医师, 主要从事间充质干细胞和脑肿瘤干细胞方面的研究。  
zzf20041986@126.com

并列第一作者: 樊锐太☆, 男, 1963 年生, 河南省南阳市人, 汉族, 1985 年河南医科大学毕业, 博士, 主任医师、教授、博士生导师, 主要从事肿瘤放射治疗。

通讯作者: 杨波, 博士, 教授, 博士生导师, 郑州大学第一附属医院神经外科, 河南省郑州市 450052; 河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室, 河南省郑州市 450052  
yangbo96@126.com

中图分类号: R394.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2013)19-03455-06

收稿日期: 2012-09-16

修回日期: 2012-12-08

(20120616003/D·C)

Zhao Zhong-fu★, Master, Chief physician, Department of Neurosurgery, Xuchang Central Hospital, Xuchang 461000, Henan Province, China; Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China  
zzf20041986@126.com

Fan Rui-tai☆, M.D., Chief physician, Professor, Doctoral supervisor, Radiotherapy Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Zhan Zhong-fu and Fan Rui-tai contributed equally to this paper.

Corresponding author: Yang Bo, M.D., Professor, Doctoral supervisor, Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China; Open Laboratory of Key Clinical Disciplines of Henan Province Higher Education, Zhengzhou 450052, Henan Province, China  
yangbo96@126.com

Supported by: Key Science and Technology Program of Henan Science and Technology Department, No. 112102310173\*; Innovative Research Team-Building Foundation of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, No. TD2011023\*

Received: 2012-09-16  
Accepted: 2012-12-08

## Abstract

**BACKGROUND:** Radiotherapy effect on of brain glioma is not ideal, and there are various possible factors that influence the therapeutic effect.

**OBJECTIVE:** To investigate the *in vitro* radiosensitivity of brain cancer stem cells in brain glioma.

**METHODS:** Glioma cells were isolated and seeded into the serum-free medium containing growth factors for culture. Glioma cells from the most active cell site were subcultured to 3-5 generations. Glioma cell vitality was assessed to determine the optimal dose of X-ray radiation.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Distinct difference in activities of proliferation could be found among cancer stem cells from different sites of glioma. X-ray dosages above 8 Gy had notable killing effect on brain cancer stem cells. Different irradiation dosage had different influence on cancer stem cells.

**Key Words:** stem cells; tumor stem cells; brain cancer stem cells; glioma; growth factors; radiosensitivity; radiotherapy; irradiation; dose; individual positioning; proliferation activity; provincial grants-supported paper

Zhao ZF, Fan RT, Yang Y, Sun JR, Hu X, Shen E, Yang B. In vitro radiosensitivity of brain cancer stem cells in brain glioma. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(19):3455-3460.

## 0 引言

脑胶质瘤是最常见的颅内原发性恶性肿瘤, 占成人所有恶性肿瘤的2%, 主要呈浸润性生长, 其病理特征与恶性程度有很大差异, 易复发及侵袭性强是其生物学特征。虽有大量的基础和临床研究, 但患者的预后仍不满意<sup>[1]</sup>。近年来, 随着人们对肿瘤细胞研究的不断深入, 提出了“肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)学说”<sup>[2-3]</sup>, 认为肿瘤细胞具有异质性, 在肿瘤组织中存在数量极少的瘤细胞, 在肿瘤的发生、发展中充当着干细胞的角色, 具有无限增殖的潜能, 在肿瘤的发生和生长中起着决定性作用, 而其余大多数细胞为肿瘤干细胞的分化细胞, 不具有成瘤能力, 经过短暂的分化, 最终死亡, 并认为正常干细胞是肿瘤干细胞形成的靶细胞。Singh等<sup>[3-6]</sup>从髓母细胞瘤等脑肿瘤组织内分离并鉴定出一种新的肿瘤干细胞, 并证实其为“脑肿瘤干细胞”。研究证实, 脑胶质瘤细胞存在异质性, 有恶性程度相对高的区域肿瘤组织的异质性是由于脑肿瘤干细胞比例或活力不同造成的, 细胞活力强的部位脑肿瘤干细胞的比例或活力一定会高<sup>[2-7]</sup>。目前放疗治疗脑胶质瘤效果不理想, 可能与瘤床中或瘤床周围肿瘤增生活跃区不明确、因而未能靶向性聚焦、给予摧毁性瞄准照射有关, 也可能与脑肿瘤干细胞的放射敏感性明显降低有关<sup>[8]</sup>, 也可能与单次大剂量放疗产生的严重并发症有关<sup>[9-11]</sup>。为了寻找胶质瘤放疗的具体靶点和最适当的放疗剂量, 课题组设计了此实验。用MTT法检测一个胶质瘤中不同位点的细胞增殖情况以确定放疗的具体靶点, 取细胞活力最强的位点扩增3-5代的肿瘤球细胞, 给予不同X射线剂量照射, 检测其细胞活力, 以确定最适的放疗剂量。期待为脑胶质瘤的个体化定位化放疗提供基础实验依据。

## 1 材料和方法

**设计:** 细胞学体外实验。

**时间及地点:** 实验于2010年4至10月在郑州大学医学院实验中心完成。

**材料:**

**标本来源:** 脑肿瘤组织来自郑州大学第一附属医院神经外科手术中切除的脑胶质瘤标本, 共9例。其中星形细胞瘤4例, WHO III级2例, IV级2例; 髓母细胞瘤2例, WHO IV级; 室管膜瘤2例, WHO III级; 少突胶质细胞瘤1例, WHO III级。

**纳入标准:** ①全部标本均经郑州大学第一附属医院病理科检验证实, 并按WHO2007年中

枢神经系统肿瘤分类分级标准进行分类<sup>[12]</sup>。②均为初发病例, 术前未行放化疗等抗肿瘤治疗, 标本获取均征得患者知情同意, 并经过医院伦理委员会批准。

**排除标准:** 肿瘤组织囊性变、坏死、电凝的标本。

**脑胶质瘤中肿瘤干细胞的体外放射敏感性实验的主要试剂:**

**Main reagents and instrument:**

试剂	来源
DMEM/F12(1:1)培养基	Hyclone 公司
B-27 添加剂	Invitrogen 公司
人表皮生长因子(EGF)、人碱性成纤维生长因子(bFGF)	三农生物科技
胰岛素、头孢哌酮结	珠海联邦制药有限公司

### 实验方法:

**细胞取材、培养及鉴定:** 方法参照 Singh 等<sup>[4,13-14]</sup>的悬浮培养法。对本组所有病例, 均在显微神经外科手术中, 结合影像学资料与术中瘤体显露, 确定肿瘤相对最大层面上的 5 个位点: 前(额叶方向)、后(枕叶方向)、内(中线方向)、外(皮质方向)、中(瘤体中心)。要求肿瘤组织无囊性变、无坏死、未电凝。取上述 5 个位点的肿瘤组织标本各 1 块, 直径 5-10 mm, 立即置入无菌注射器中, 外加无菌包布严密包裹, 送实验室进行分离培养。鉴定方法同文献报道<sup>[4,6,15-19]</sup>。

**胶质瘤中不同位点的细胞增殖测定:** 结合影像学资料与术中瘤体显露, 确定肿瘤相对最大层面上的 5 个位点: 前(额叶方向)、后(枕叶方向)、内(中线方向)、外(皮质方向)、中(瘤体中心)。取制成单细胞悬液即原代肿瘤干细胞悬液, 按  $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$  的细胞浓度接种于 96 孔板中, 每个位点重复 10 孔, 置于  $37^\circ\text{C}$ , 体积分数 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中过夜。取  $-20^\circ\text{C}$  冻存的 MTT 溶液  $37^\circ\text{C}$  水浴融化, 每孔内加入该溶液 20  $\mu\text{L}$  (终浓度约 0.5 g/L), 轻轻拍打 96 孔板边缘混匀, 在体积分数 5%  $\text{CO}_2$ 、 $37^\circ\text{C}$  培养箱培养内放置 4 h。4 h 后倒置显微镜观察见 96 孔培养板底部大量紫蓝色结晶, 小心地将培养液吸除 100  $\mu\text{L}$ , 每孔加入溶解液(二甲基亚砜)100  $\mu\text{L}$ , 轻轻拍打 96 孔板边缘混匀, 振荡使晶体充分溶解后, 在酶标仪(Bio-Rad 公司, 550 型)570 nm 处测定吸光度(A 值)。

**胶质瘤的放射敏感性测定<sup>[20-21]</sup>:** 取上述测定的细胞活力最强的位点扩增 3-5 代的肿瘤球细胞, 按  $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$  的细胞浓度先接种于 6 孔板中, 每孔 5 mL, 置于  $37^\circ\text{C}$ 、体积分数 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中过夜, 分别给予分别给予 2, 3, 5, 8, 12, 15 Gy 的直线加速器产生的 6 MV X 射线照射。照射后, 吹打混匀, 再分别接种于 96 孔板,

每板每个剂量组重复 10 孔, 继续培养 3 d, 同上法测定吸光度(A 值)。

**主要观察指标:** 细胞的吸光度值(A 值)。

**统计学分析:** 用统计软件 SPSS 17.0 处理数据, 采用单因素方差分析及 LSD 法,  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 纳入样本数量分析** 在实验过程中样本无脱落, 没有进行剔除, 进入结果分析的样本数量 9 例。

**2.2 胶质细胞瘤不同位点的细胞活力测定结果** 9 例胶质细胞瘤中, 有 6 例 3 个位点间细胞活力不同, 有 3 例 2 个位点间细胞活力不同。

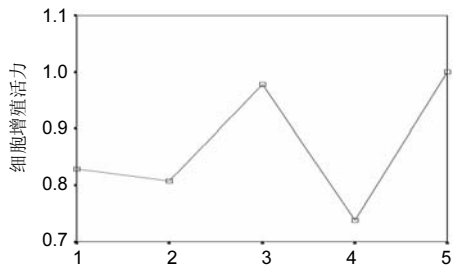
**某例间变性星形细胞瘤(3级)不同位点的细胞活力测定结果:** 细胞 MTT 测定统计分析: 方差齐性检验示各样本呈方差齐性, 单因素方差分析示各总体均数有不同。LSD 检验示: 前侧(额叶方向)细胞活力与后侧(枕叶方向)比较, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 但是前侧(额叶方向)与内(中线方向)、外(皮质方向)、中(瘤体中心)相比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ); 后侧(枕叶方向)与内(中线方向)、外(皮质方向)、中(瘤体中心)相比较, 差异均有显著性意义( $P < 0.05$ ); 内(中线方向)、外(皮质方向)相比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 与中(瘤体中心)相比较, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。综合上述分析结果, 各组之间的细胞活力综合排序为: 内(中线方向)=中(瘤体中心)>前(额叶方向)=后(枕叶方向)>外(皮质方向), 见表 1, 图 1。

表 1 胶质瘤中不同位点的生长活性

Table 1 Cell growth activity at the different sites in glioma ( $\bar{x} \pm s, A_{570}$ )

部位	孔数	A 值
前(额叶方向)	10	0.829 0±0.045 8
后(枕叶方向)	10	0.808 0±0.055 1
内(中线方向)	10	0.977 0±0.063 6
外(皮质方向)	10	0.738 0±0.041 9
中(瘤体中心)	10	0.976 0±0.085 7
F	2.57	31.15
P	0.05	< 0.01

注: 结果提示, 胶质瘤中不同部位的肿瘤细胞增殖活力不同, 内侧(中线方向)细胞活力最高, 与中侧(瘤体中心)相当, 大于前侧(额叶方向)和后侧(枕叶方向), 外侧(皮质方向)最低。



1, 2, 3, 4, 5 分别代表前(额叶方向)、后(枕叶方向)、内(中线方向)、外(皮质方向)、中(瘤体中心)。

注: 均数图直观地显示均数图胶质瘤中不同部位的肿瘤细胞增殖活力有差异, 内(中线方向)=中(瘤体中心)> 前(额叶方向)=后(枕叶方向) >外(皮质方向)。

图 1 胶质瘤中不同位点的细胞活力 A 值均数图

Figure 1 Mean absorbance value of cell activity at different sites in glioma

**2.3 胶质瘤的放射敏感性** 9例胶质细胞瘤细胞活力最强的位点扩增3-5代的肿瘤球细胞X射线照射后3 d的细胞活力测定结果均显示, 2, 3以及5 Gy组之间放疗效果差异无显著性意义, 8 Gy以上组放疗效果比5 Gy以下组差别明显。

同一例间变性星形细胞瘤细胞活力最强的位点扩增3-5代的肿瘤球细胞X线照射后3 d的细胞活力测定结果: 细胞MTT测定统计分析显示: 方差齐性检验示各样本呈方差齐性, 单因素方差分析示各总体均数有不同。见表2。

表 2 细胞活力最强的位点扩增 3-5 代的肿瘤球细胞 X 线照射后 3 d 的细胞活力

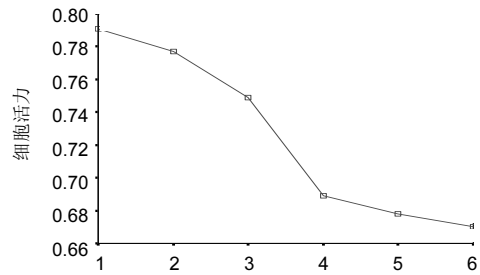
Table 2 Cell activity of glioma cells from the most active cell site subcultured to 3-5 generations after X-ray radiation for 3 d ( $\bar{x} \pm s, A_{570}$ )

照射剂量	孔数	A值
2 Gy	10	0.79 10±0.055 1
3 Gy	10	0.777 0±0.045 2
5 Gy	10	0.749 0±0.048 9
8 Gy	10	0.689 0±0.090 4 <sup>a</sup>
12 Gy	10	0.678 0±0.027 1 <sup>ab</sup>
15 Gy	10	0.670 0±0.081 1 <sup>ab</sup>
F	2.37	5.754
P	0.05	< 0.01

与 2, 3 Gy 剂量组比较, <sup>a</sup>P < 0.05; 与 5 Gy 剂量组比较, <sup>b</sup>P < 0.05。

注: 随着放射剂量的增加, 细胞活力逐渐下降。

LSD检验显示: 2, 3, 5 Gy组间比较, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); 2, 3 Gy组分别与8, 12, 15 Gy组相比较, 差异均有显著性意义( $P < 0.05$ ); 5, 8 Gy组间比较, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 但是, 5 Gy组与12, 15 Gy组相比较, 差异均有显著性意义( $P < 0.05$ ); 8, 12, 15 Gy组间比较, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。从均数图上看, 各剂量组间细胞活力无论有无显著性意义, 均随着放射剂量增加, 细胞活力逐渐下降, 见图2。



1, 2, 3, 4, 5, 6 分别代表 2, 3, 5, 8, 12, 15 Gy 组。

注: 随着放射剂量的增加, 细胞活力逐渐下降。

图 2 细胞活力最强的位点扩增 3-5 代的肿瘤球细胞 X 线照射后 3 d 的细胞活力 A 值均数图

Figure 2 Mean absorbance value of cell activity of glioma cells from the most active cell site subcultured to 3-5 generations after X-ray radiation for 3 d

### 3 讨论

目前放疗治疗脑胶质瘤效果不理想, 可能与瘤床中或瘤床周围肿瘤增生活跃区不明确、因而未能靶向性聚焦、给予摧毁性瞄准照射有关, 也可能与脑肿瘤干细胞的放射敏感性明显降低有关<sup>[8]</sup>, 脑肿瘤干细胞即为 CD133<sup>+</sup>细胞, 对肿瘤的生长、播散、复发等临床行为起决定性作用, 并且难以通过传统化疗根除<sup>[21]</sup>。这样的“肿瘤增生活跃区”, 相当于肿瘤中的根基, 称之为“肿瘤巢”, 与肿瘤干细胞的生物学特性高度一致。实验已经提示, 脑胶质瘤内有肿瘤干细胞根基的存在<sup>[7]</sup>。脑肿瘤干细胞和神经干细胞一样均表达 Nestin 和 CD133<sup>[7]</sup>, 这与文献报道一致<sup>[2, 12]</sup>。同时发现, 在进行肿瘤球培养时, 也出现大量的非聚集的单个细胞, 这些细胞都沉淀于培养瓶底, 均不表达 CD133 和 Nestin。9 例胶质细胞瘤中, 有 6 例 3 个位点间细胞活力不同, 有 3 例 2 个位点间细胞活力不同。这个结果提示脑胶质瘤细胞的异质性, 每例脑胶质瘤可能有二三个“肿瘤巢”。因此, 作者进行术后 X 刀等放射治疗时, 就要以这些“肿

瘤巢”为靶点。

脑胶质瘤放疗目前多主张采用局部野照射, 根据术前MRI/CT, 先给予肿瘤瘤床及周围水肿带外2 cm的区域照射, 然后缩野在瘤外2 cm的区域追加剂量<sup>[23-25]</sup>。临床研究显示, 常规分割剂量小于60 Gy, 患者生存期降低; 而大于60 Gy, 放射性脑损伤增加, 但生存期差异无统计学意义<sup>[26]</sup>, 尽管有多种超分割方案, 但不能明显提高生存率<sup>[28-30]</sup>。实验研究结果提示, 2 Gy, 3 Gy以及5 Gy组之间放疗效果没有明显差别, 8 Gy以上组放疗效果比5 Gy以下组差别明显。常规放疗效果差, 可能与定位差和单次剂量放疗剂量过小有关, 因此不能定点清除“肿瘤巢”, 难免导致肿瘤复发。

精确瘤床放疗技术可做到定位准确, 解决了常规放疗定位差的问题, 可明显降低正常脑组织剂量, 从而降低辐射相关并发症<sup>[31-33]</sup>。三维适形放疗(Three-dimensional conformal radiotherapy, 3DCRT)和立体定向放射外科(stereotactic radiosurgery, SRS)均可精确定位, 可大剂量集中照射病灶区, 实现治疗体积内高剂量辐射, 而对周围正常脑组织的辐射剂量较小<sup>[26,34]</sup>, 三维适形放疗组1年, 2年和3年生存率与立体定向放射外科组相似<sup>[9]</sup>。资料显示, 立体定向放射外科放射性脑水肿反应明显高于三维适形放疗, 并可产生严重并发症<sup>[9-11]</sup>。三维适形放疗总剂量为36-50 Gy, 每次分割剂量6.0-7.0 Gy, 隔日1次, 共需6-8次完成; 光子刀治疗时80%的边缘剂量为15-25 Gy, 一次完成。低单次放疗剂量造成放射性脑损害轻微, 高单次放疗剂量造成放射性脑损害严重。因此, 实验有必要探求单次放疗的最适剂量。

胶质瘤常规放疗总剂量为60 Gy, 常规分割每次为2 Gy, 超分割每次1.2-1.8 Gy/次, 加速超分割每次1.9-2.65 Gy/次; 三维适形放疗总剂量为36-50 Gy, 每次分割剂量6.0-7.0 Gy, 隔日1次, 共需6-8次完成; 光子刀治疗时80%的边缘剂量为15-25 Gy, 一次完成。实验以这几个剂量为基础, 设计了实验组。9例胶质瘤病例, 结果均显示, 2 Gy, 3 Gy, 5 Gy组间差异无显著性意义; 2 Gy, 3 Gy组分别与8 Gy, 12 Gy, 15 Gy组相比较差异均有显著性意义; 5 Gy, 8 Gy组间差异无统计学意义, 但是, 5 Gy组与12 Gy, 15 Gy组相比较差异均有显著性意义; 8 Gy, 12 Gy, 15 Gy组间差异无显著性意义。从均数图上看, 各剂量组间细胞活力无

论有无显著性意义, 均随着放射剂量的增加, 细胞活力逐渐下降。结果可以看出, 一次放疗剂量越大, 肿瘤周边正常组织的放射性损伤越严重, 因此放疗时不应该选择一次放疗剂量过大的放疗方案。因此说, 每次8 Gy的放疗剂量可能是胶质瘤放疗的最佳剂量, 此剂量的三维适形调强放疗方案可能既有助于提高疗效还能减少脑部并发症的发生。手术切除肿瘤干细胞根基后, 残余组织里面有可能仍然存在肿瘤干细胞, 可作为后续立体定向放射治疗的重要靶区; 同时测定该活力位点扩增3-5代脑肿瘤干细胞的放射敏感性, 能够发现对应的最适放疗剂量; 总之, 最适放疗剂量的三维适形调强放疗方案可能是最佳的放疗方案。如果同时对活力位点扩增3-5代的脑肿瘤干细胞的化疗敏感性进行测定, 那么应该能够发现较适合的化疗药物和剂量。同时, 应用海洋单细胞海藻的有效成分结合人脐带沃顿胶间充质干细胞移植<sup>[35]</sup>, 就可以实现脑胶质瘤的个体化定位化治疗, 提高胶质瘤的临床治愈率。

**基金资助:** 河南省科技厅科技攻关项目(112102310173); 郑州大学第一附属医院创新科研团队建设基金项目(TD2011023)。

**作者贡献:** 第一、七作者及并列第一作者进行实验设计, 实施为第一、三、四、五、六作者, 实验评估为第一及并列第一作者, 第一、三作者进行资料收集, 第一作者成文, 审校为并列第一作者樊锐太及第七作者, 第一作者赵中甫对文章负责。赵中甫与樊锐太对实验贡献基本相同, 故并列为第一作者。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 标本获取均征得患者知情同意, 并经过医院伦理委员会批准。

**作者声明:** 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

#### 4 参考文献

- [1] Hang CH. Zhongguo Weiqin Shenjing Waiké Zazhi. 2011; 16(9):429-432.  
杭春华. 脑胶质瘤的治疗进展[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2011, 16(9):429-432.
- [2] Reya T, Morrison S J, Clarke M F, et al. Stem cells, cancer stem cells. Nature. 2001, 414(6859):105-111.
- [3] Huang XD, Sun FF, Ye XQ. Shengming de Huaxue. 2011; 31(4):502-505.  
黄学德, 孙芬芬, 叶小群. 肿瘤干细胞与肿瘤转移[J]. 生命的化学, 2011, 31(4):502-505.

- [4] Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res.* 2003; 63(18):5821-5828.
- [5] Cheshier SH, Kalani MY, Lim M, et al. A neurosurgeon's guide to stem cells, cancer stem cells, and brain tumor stem cells. *Neurosurgery.* 2009;65(2):237-250.
- [6] Cheng JX, Liu BL, Zhang X. How powerful is CD133 as a cancer stem cell marker in brain tumors? *Cancer Treat Rev.* 2009;35(5):403-408.
- [7] Zhao ZF, Yang B, Guan FX, et al. Zhengzhou Daxue Xuebao (Yixueban). 2007;42(2):365-366.  
赵中甫,杨波,关方霞,等.脑胶质瘤不同位点肿瘤干细胞的特性分析[J].郑州大学学报:医学版,2007,42(2),365-366.
- [8] Ke J, He J. Xiandai Yixue. 2009;37(3):192-195.  
柯金,何杰.脑肿瘤干细胞放射敏感性的实验研究[J].现代医学,2009,37(3):192-195.
- [9] Li ZM, Cui YQ. Xiandai Zhongliu Yixue. 2006;14(1):12-13.  
李珠明,崔玉琴.三维适形放疗与立体定向放射外科治疗脑胶质瘤初步临床分析[J].现代肿瘤医学,2006,14(1):12-13.
- [10] Wang JJ, Wang G, Zhou ZM, et al. Aizheng Jinzhan. 2011; 9(1):63-67.  
王俊杰,王刚,周章明,等.神经胶质瘤的治疗研究进展[J].癌症进展,2011,9(1):63-67.
- [11] Pirtoli L, Rubino G, Marsili S, et al. Three-dimensional conformal radiotherapy, temozolomide chemotherapy, and high-dose fractionated stereotactic boost in a protocol-driven, postoperative treatment schedule for high-grade gliomas. *Tumori.* 2009;95:329-337.
- [12] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97-109.
- [13] Ji XT, Zhang X, Fei Z, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2007;11(24):4690-4692.  
姬西团,章翔,费舟,等.人胚胎神经干细胞体外条件下对胶质瘤细胞的趋向性特点[J].中国组织工程研究与临床康复,2007, 11(24) 4690-4692.
- [14] Zhang L, Li XL. Zhongguo Xiandai Yixue Zazhi. 2012;22(20): 52-55.  
张蕾,李晓莉.神经干细胞的分离培养和鉴定及体外长期培养[J].中国现代医学杂志,2012,22(20):52-55.
- [15] Yuan X, Curtin J, Xiong Y, et al. Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme. *Oncogene.* 2004;23(58): 9392-9400.
- [16] Duan XB, Guan FX, Deng XH, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(23): 4215-4219.  
段小兵,关方霞,邓晓辉,等.海洋单细胞海藻体外对人脑胶质瘤干细胞生物学活性的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2011, 15(23):4215-4219.
- [17] Kong BH, Park NR, Shim JK, et al. Isolation of glioma cancer stem cells in relation to histological grades in glioma specimens. *Childs Nerv Syst.* 2012 Nov 10.
- [18] Warriar S, Pavanram P, Raina D, et al. Study of chemoresistant CD133<sup>+</sup> cancer stem cells from human glioblastoma cell line U138MG using multiple assays. *Cell Biol Int.* 2012;36(12):1137-1143.
- [19] Azari H, Millette S, Ansari S, et al. Isolation and expansion of human glioblastoma multiforme tumor cells using the neurosphere assay. *J Vis Exp.* 2011;30(56):3791-3633.
- [20] Liu YG, Yang ZY, Wang TH. Sichuan Jiepouxue Zazhi. 2012; 20(3):1-4,8.  
刘永贵,杨智勇,王廷华.胶质瘤细胞及其干细胞的放疗敏感性差异[J].四川解剖学杂志,2012,20(3):1-4,8.
- [21] Lu HM, Qiang YZ, Shi Q, et al. Fushe Fanghu. 2001;21(6): 349-353.  
卢红梅,强亦忠,施勤,等.p53基因状态对人卵巢癌细胞放射敏感性的影响[J].辐射防护,2001,21(6):349-353.
- [22] Wang XX, Liu JP. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012; 16(14):2637-2640.  
王欣欣,刘季平.脑肿瘤干细胞的研究现状[J].中国组织工程研究, 2012,16(14):2637-2640.
- [23] Zhou CH. Zhongliu Yanjiu yu Linchuang. 2006;18(4):280-282.  
周陈华.脑胶质瘤的放射治疗进展[J].肿瘤研究与临床, 2006, 18(4): 280-282.
- [24] Xiong XH. Fujin Yiyao Zazhi. 2011;33(4):145-147.  
熊学辉.神经胶质瘤治疗方法进展[J].福建医药杂志,2011, 33(4): 145-147.
- [25] Kovács A, Tóth L, Glavák C, et al. Integrating functional MRI information into conventional 3D radiotherapy planning of CNS tumors. Is it worth it? *J Neurooncol.* 2011;105(3): 629-637.
- [26] Grossman SA, Batara JF. Current management of glioblastoma multiforme. *Semin Oncol.* 2004;31(5):635-644.
- [27] Tanaka S, Louis DN, Curry WT, et al. Diagnostic and therapeutic avenues for glioblastoma: no longer a dead end? *Nat Rev Clin Oncol.* 2012 Nov 27.
- [28] Reni M, Cozzarini C, Panucci MG, et al. Irradiation fields and doses in glioblastoma multiforme: are current standards adequate. *Tumori.* 2001;87(2):85-90.
- [29] Nieder C, Andratschke N, Wiedenmann N, et al. Radiotherapy for high-grade gliomas. Does altered fractionation improve the outcome? *Strahlenther Onkol.* 2004;180(7):401-407.
- [30] Lee DS, Yu M, Jang HS, et al. Radiation-induced brain injury: retrospective analysis of twelve pathologically proven cases. *Radiat Oncol J.* 2011;29(3):147-155.
- [31] Grosu AL, Weber W, Feldmann HJ, et al. First experience with I-123-alpha-methyl-tyrosine spect in the 3-D radiation treatment planning of brain gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;47(2):517-526.
- [32] Tralins KS, Douglas JG, Stelzer KJ, et al. Volumetric analysis of 18F-FDG PET in glioblastoma multiforme: prognostic information and possible role in definition of target volumes in radiation dose escalation. *J Nucl Med.* 2002;43(12):1667-1673.
- [33] Paldino MJ, Wong TZ, Reardon DA, et al. Prognostic significance of parameters derived from co-registered 18F-fluorodeoxyglucose PET and contrast-enhanced MRI in patients with high-grade glioma. *Br J Radiol.* 2011;84(1000): 327-333.
- [34] Iliadis G, Kotoula V, Chatzistiriou A, et al. Volumetric and MGMT parameters in glioblastoma patients: survival analysis. *BMC Cancer.* 2012 Jan 3;12:3.
- [35] Tian Y, Guan FX, Hu X, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010,14(10):1721-1728.  
田毅,关方霞,胡祥,等.人脐带沃顿胶间充质干细胞与脑肿瘤干细胞的共培养[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(10): 1721-1728.