干细胞 niche 与肿瘤干细胞产生和发展的关系

吴银艳¹, 黄强^{1,2}, 董军^{1,2}, 兰青^{1,2}

Correlation of Stem Cell Niche to Genesis and Development of Tumor Stem Cells

WU Yin-Yan¹, HUANG Qiang^{1,2}, DONG Jun^{1,2}, LAN Qing^{1,2}

1. 苏州大学附属第二医院
神经外科暨脑肿瘤研究室,
江苏 苏州 215004

2. 苏州大学神经疾病实验室,
江苏 苏州 215123

1. Department of Neurosurgery/
Brain Tumor Research Laboratory,
The Second Affiliated Hospital,
Soochow University,
Suzhou, Jiangsu, 215004,
P. R. China

2. Laboratory of Aging and
Neuro-diseases,
Soochow University,
Suzhou, Jiangsu, 215123,
P. R. China

通讯作者: 黄强

Correspondence to: HUANG Qiang
Tel: 86-512-67783937
Fax: 86-512-68284303
E-mail: hq1936@yahoo.com.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助
项目 (No. 30400457;
No. 30672164)

Grant: National Natural Science
Foundation of China
(No. 30400457; No. 30672164)

收稿日期: 2007-02-26
修回日期: 2007-04-29

[ABSTRACT] The tumor stem cell model proposes that tumor stem cells are the origin of most tumors. Like normal stem cells, tumor stem cells have the ability to self-renew and to give rise to the variety of proliferating and differentiated cells that make up the bulk of a tumor. Tumor stem cells could be derived from normal stem cells or differentiated cells. The stem cell niches are the microenvironment that maintains stem cells primarily in a quiescent state by providing signals that inhibit cell proliferation and growth. Loss of niches can result in loss of stem cells and increasing niches lead to an increased number of stem cells. Tumor stem cells could live in abnormal niches. Disrupting this abnormal niches may impair tumor stem cell self-renewal, thereby, significantly inhibits the growth of tumors. Targeting the unique microenvironment of tumor stem cells may be the key of effective cancer therapy.

KEYWORDS: Niche; Tumor stem cells; Stem cells

【摘要】肿瘤干细胞学说认为大部分肿瘤来源于肿瘤干细胞。肿瘤干细胞与正常干细胞一样具有自我更新能力,能够产生肿瘤组织团块中的各种增殖和分化的细胞。肿瘤干细胞可能来源于正常干细胞或分化细胞。干细胞 niche 是干细胞生存的微环境,通过提供抑制细胞增殖和生长的信号来维持干细胞于静止状态。干细胞 niche 功能异常会导致 niche 的数量增加,以及干细胞功能异常和数量增加。肿瘤干细胞可能在异常的 niche 中存活,打破这种异常的 niche 就会削弱肿瘤干细胞的自我更新,从而抑制肿瘤的生长。靶向肿瘤干细胞异常微环境的治疗策略可能是癌症治疗的一个方向。

关键词: niche; 肿瘤干细胞; 干细胞

中图分类号: R730.2 文献标识: A
文章编号: 1000-467X(2008)01-0109-04

越来越多的证据表明大多数肿瘤起源于肿瘤干细胞,这种细胞具有无限增殖和在体内外形成肿瘤的能力。而肿瘤干细胞的来源还是一个未解之谜^[1],有研究推测肿瘤干细胞来自机体的正常干细胞,如果是这样,那么在这个改变过程中是细胞内部基因组的改变还是外部微生态的改变占主导还存在争论。干细胞 niche 学说问世,对上述争论提出了新观点。

1 肿瘤干细胞学说与肿瘤干细胞来源

近年来,干细胞生物学和肿瘤学研究不断深入。Reya 等^[2]基于干细胞和肿

瘤细胞部分相似的生物学特性提出了“肿瘤干细胞假说”,现作如下介绍:肿瘤组织中存在极少量的具有自我更新、无限增殖和多向分化潜能的肿瘤干细胞,正是这群特异性细胞促使了肿瘤的产生和发展。之后,又有人以此对肿瘤的细胞起源、发生模式和临床诊疗等方面补充了新的内容^[3,4]。目前,已从急性髓性白血病^[5]、多发性骨髓瘤^[6]、乳腺癌^[7]、脑肿瘤^[8-14]、非小细胞肺癌^[15]、黑色素瘤^[16]、前列腺癌^[17]和膀胱癌^[18]等多种类型的肿瘤组织中成功分离和鉴定出肿瘤干细胞。肿瘤干细胞是肿瘤发生的起始细胞越来越受到大多数学者的认同,但其来源目前尚无定论,主要

有两种假说:(1)来源于相应组织正常干细胞的突变^[19];(2)一些已开始分化的原始细胞或成熟细胞在癌变以前重新获得自我更新能力,经突变后去分化为肿瘤干细胞^[20]。比较公认的观点是前者,因为已鉴定的肿瘤干细胞和所在器官的正常干细胞分化标志分子表型一致,且干细胞天生具有与肿瘤一样的无限增殖能力,有机会进行多次突变引发肿瘤^[4-18]。然而,肿瘤干细胞为何从正常干细胞突变而来,在多种推测中,干细胞 niche 学说是倍受关注的新观点。

2 干细胞 niche 及其功能

Niche 一词,尚无统一的汉字翻译,从结构上理解是“壁龛”;从功能上理解是一种小的生态环境,即“小生境”。干细胞 niche 是干细胞居留的一个微环境,影响着干细胞的增殖和分化,通过与干细胞之间的直接和/或间接作用影响干细胞的命运。现已在造血系统、表皮、消化道、神经系统和性腺等组织发现 niche 结构^[21],即存在于器官或组织中可以维持干细胞自我更新及避免分化的微环境,包括 niche 细胞、细胞外基质和来源于 niche 细胞的可溶性因子^[22],其中 niche 细胞是主要成份,各种组织的 niche 细胞各有不同。在 niche 中,只有接触 niche 细胞的干细胞才维持在静止状态,没接触的进入分化进程,最终离开 niche 成为终末分化细胞^[23]。多种生物的不同组织相应干细胞的 niche 细胞已得到明确,如果蝇卵巢中的帽子细胞、末端丝状细胞和内发生鞘细胞^[24],哺乳动物骨髓中的成骨细胞^[23]等。干细胞特征的维持与干细胞所处的微环境有密切关系,干细胞 niche 是微环境的核心区域,它们可通过与干细胞之间的直接和/或间接作用,发挥多重生物学功效,简述如下。

2.1 锚定干细胞并调控其处于 G₀ 期

正常情况下,干细胞寄居在组织或器官特定的 niche 中,这与干细胞和 niche 成分表达的粘附分子有关。钙粘蛋白(cadherin)和整合素(integrin)介导的细胞粘附是普遍存在的 niche 锚定干细胞的机制^[23-27]。干细胞 niche 可以锚定干细胞的另一个证据是它可以招募

新的干细胞,即干细胞的“归巢”现象。发现移植的造血干细胞(hemopoietic stem cells,HSCs)在细胞因子的趋化作用下最终进入宿主骨髓的 HSCs niche 中^[28]。同时,干细胞 niche 还为干细胞提供了一个控制增殖、抑制分化的微环境^[21]。

2.2 维持干细胞自我更新和分化间的平衡

干细胞功能是双重的,既要维持干细胞的自我更新,也要多向分化为功能所需的细胞。一般情况下干细胞可以通过非对称性分裂成为一个可以自我更新的子代干细胞和一个分化的起始细胞,或者通过对称性增殖分裂为两个子代干细胞或分化分裂为两个起始分化细胞,如此交替进行来维持自我更新与分化之间的平衡^[29]。

2.3 掌控干细胞的命运

干细胞 niche 另外一个重要功能是为干细胞提供一个保护性微环境,使之不受外部因素的影响,并根据生理需要维持干细胞未分化或启动分化状态。这一特殊功能的维持,依赖于 niche 成分中的 niche 细胞、细胞外基质和来源于 niche 细胞的可溶性因子。它们可以通过与干细胞发生直接或间接的作用,从而调控干细胞。Niche 信号的变化可引起干细胞命运的改变,其中分泌因子对干细胞的命运具有重要的作用。如白细胞介素、Wnt 蛋白、表皮生长因子及其家族成员、类胰岛素生长因子和前列腺素等^[30,31],能够对干细胞增殖起到促进或抑制作用。此外,转化生长因子 β 家族也是调控干细胞行为的一类重要因子。白血病抑制因子通过与受体结合激活 JAK-STAT 信号通路参与维持干细胞的未分化状态和自我更新。转录因子 STAT3 对维持干细胞未分化状态起重要作用^[30]。Wnt 蛋白属于分泌性生长因子,与靶细胞上的跨膜受体卷曲(frizzled)蛋白发生特异性结合,通过 β-连环蛋白入核与 TCF/LEF 家族成员等典型转录因子形成复合物,激活相关基因的转录系统,从而调控干细胞的自我更新^[27]。β-连环蛋白不仅介导了细胞与细胞之间的粘附,还作为 Wnt 信号通路中的关键成员起着调节开关的作用^[32,33]。Wnt 信号通路在肠、表皮、造血组织、神经系统等组织或器官中参与调

控干细胞的自我更新^[34]。有些信号是通过细胞间的直接接触起作用的。Notch 通过细胞之间的接触作用来精细地调控干细胞命运^[35]。此外,参与调控干细胞的还有 Shh (sonic hedgehog)、Tie2/Ang-1 等信号通路。Niche 细胞和分泌的可溶性因子都是通过上述信号通路发挥调控干细胞的自我更新与分化作用的。此外,胞外基质不仅可以参与锚定干细胞,还能影响干细胞的分化。Zhu 等^[36]发现,悬浮培养的表皮干细胞很快分化,将活化域缺失的 β1-integrin 突变体转染细胞,发现转染成功的表皮干细胞与 IV 型胶原的粘附性显著降低,丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)活性显著减弱,克隆形成能力下降,增殖潜能丧失,随后表皮干细胞退出干细胞 niche,很快进入终末分化;而上调野生型 β1-integrin 的表达或者激活 MAPK,表皮干细胞则恢复粘附特性及增殖潜能。这说明胞外基质中的配体与 β1-integrin 相互作用后,通过激活 MAPK 信号通路,调节干细胞分化。

3 干细胞 niche 与肿瘤发生发展

干细胞 niche 是干细胞生存的外部环境,niche 成分的改变及 niche 中信号通路的改变都会对干细胞的数量及功能产生影响。因为与 niche 细胞接触的干细胞才保持干细胞的特性,所以 niche 细胞数量的多少直接影响到干细胞的数量。另外,niche 中的信号通路影响着干细胞的增殖与功能的发挥。因此,一旦某些原因导致干细胞不受控制的增殖或者分化不彻底、逆分化都可能使正常的干细胞转变成肿瘤干细胞,并源源不断地产生肿瘤细胞,具体变化过程如下。

3.1 干细胞的过度增殖可能导致肿瘤的发生

Niche 具有维持干细胞的作用。在生理状态下,niche 能防止干细胞过度增殖,niche 中 niche 细胞的数量受到控制,而只有与 niche 细胞粘附的干细胞才能留在 niche 中进行自我更新,另外的细胞必须迁出 niche 进一步分化^[23]。如果 niche 的功能异常,导致 niche 细胞的数量增加就会使干细胞过度增殖,使得组织异常增生。niche

中的信号异常可能导致正常的干细胞变成肿瘤干细胞从而导致肿瘤的发生^[37]。Chepko 等^[38]的实验验证了干细胞 niche 在癌症发生中的重要性。他们分别转入了与增殖相关的基因 c-Myc 和 TGF- α 使得转基因鼠形成了形态学上不同的乳房肿瘤,其细胞类型和细胞周期调节具有细胞类型和微环境上的特异性,并认为转基因鼠首先改变的是 niche 的结构,进而导致肿瘤发生,并且转入不同的基因 niche 形态也随之改变,进而使得其肿瘤细胞类型也不同。

3.2 分化细胞进入 niche 回到干细胞状态导致肿瘤发生

分化细胞如果出现逆分化回到干细胞状态也可能成为肿瘤干细胞进而启动肿瘤的发生。Kai 等^[39]的实验显示果蝇卵巢 niche 中的生殖干细胞迁出 niche 后, niche 中的帽子细胞活性还能保持几个星期,使卵细胞进入 niche 中,只要帽子细胞存在迁入的细胞就能增殖。Kai 等^[40]的另一研究报告,4~8 个细胞的果蝇生殖囊胚进入 niche 后能去分化成为有功能的生殖干细胞。在哺乳动物中,小鼠黑色素干细胞的子代迁出 niche 后也可以不分化,而产生新的 niche 和返回到干细胞状态,从而使 niche 和 niche 细胞数量的异常扩增,为形成肿瘤创造了条件^[41]。

3.3 干细胞 niche 与肿瘤转移

Kaplan 等^[42]证实,血管内皮生长因子受体 1 (vascular endothelial cell growth factor receptor1, VEGFR1) 阳性的骨髓源性造血祖细胞在肿瘤细胞到达前已为肿瘤细胞营造了转移前位点和聚集成细胞簇来停泊转移来的肿瘤细胞。而用 VEGFR1 抗体或通过去除骨髓中 VEGFR1 阳性细胞,就使得骨髓源性造血祖细胞无法聚集成细胞簇,肿瘤细胞无处停泊,从而防止了肿瘤的转移。这说明肿瘤的转移成功与否与 niche 的关系十分密切。

另外,正常干细胞归巢和动员同肿瘤的侵袭和转移的分子机制有某些相似性。例如,在 HSCs 动员期间,基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinases, MMP-9) 对于胞外基质组分的蛋白水解和干细胞因子从膜束缚形式向自由形式的转变是必需的。然后通过原癌基

因 c-kit 蛋白受体促进 HSCs 增殖和动员^[43],而 MMP 家族的分子也是与癌细胞转移过程有关的关键分子^[44]。同样,整联蛋白对于干细胞迁移是必需的,而整联蛋白也与肿瘤干细胞迁移和转移有关^[45]。反之,癌细胞转移也显示出一些干细胞的特性,如在干细胞的归巢和动员中,基质细胞衍生因子(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)与它的特异性受体 CXCR4 扮演重要角色^[46],而 SDF-1 也与乳腺癌细胞迁移有关^[47]。如此看来,干细胞的归巢和动员与肿瘤干细胞的侵袭和转移,从科学理论上有一定的联系,但具体的机制尚有待于进一步研究。

4 存在问题与展望

干细胞 niche 是干细胞居留的环境,它的异常可能使正常干细胞转化为肿瘤干细胞,同时分化细胞进入 niche 后也可能成为肿瘤干细胞,进而启动肿瘤的发生和进展。而且干细胞的动员与归巢又与肿瘤侵袭和转移有着密切的关系。干细胞 niche 在肿瘤的发生发展中起着重要的作用,可能成为治疗肿瘤的靶标,尽管已经发现某些肿瘤干细胞生存在 niche 中^[48],但目前对干细胞 niche 的了解还不够全面,仍有许多未解之谜,如干细胞 niche 的具体位置在哪里,是否有一个特定的形态,其各组分的具体作用是什么?一个正常干细胞或者分化的细胞是如何在 niche 中变成肿瘤干细胞的,等等。探索这个过程和潜在的分子机制将为理解癌细胞转移提供重要线索,有助于找到杀伤癌细胞而不影响正常干细胞的新疗法,也可以防止正常干细胞或分化细胞向肿瘤干细胞转化从而预防肿瘤的发生。

【参 考 文 献】

- [1] 陈 骅, 黄 强, 董 军, 等. 肿瘤起源细胞学说与争论 [J]. 癌症, 2006, 25(6): 779-784.
- [2] Reya T, Morrison S J, Clarke M F, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells [J]. Nature, 2001, 414(6859): 105-111.
- [3] Wicha M S, Liu S L, Dontu G. Cancer stem cells: an old idea-a paradigm shift [J]. Cancer Res,

2006, 66(4): 1883-1890.

- [4] 黄 强. 胶质瘤生成细胞及其在胶质瘤起源中的作用 [J]. 中华神经外科杂志, 2006, 22(12): 773-774.
- [5] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice [J]. Nature, 1994, 367(6464): 645-648.
- [6] Matsui W, Huff C A, Wang Q, et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells [J]. Blood, 2004, 103(6): 2332-2336.
- [7] Al-Hajj M, Wicha M S, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(7): 3983-3988.
- [8] Singh S K, Hawkins C, Clarke I D, et al. Identification of human brain tumour initiating cells [J]. Nature, 2004, 432(7015): 396-401.
- [9] 李茗初, 邓永文, 伍 军, 等. 髓母细胞瘤中脑肿瘤干细胞的分离培养及鉴定 [J]. 癌症, 2006, 25(2): 241-246.
- [10] 朱玉德, 季晓燕, 黄 强, 等. 人脑胶质瘤干细胞初步研究 [J]. 中华神经外科杂志, 2007, 23(2): 127-130.
- [11] 王金鹏, 黄 强, 张全斌, 等. 人脑胶质瘤干细胞 SHG44s 的克隆及初步鉴定 [J]. 中国肿瘤临床, 2005, 32(11): 604-606.
- [12] 季晓燕, 黄 强, 董 军, 等. 脑肿瘤干细胞体外分化的形态、标志物及细胞增殖动力学特征 [J]. 中华医学杂志, 2006, 86(23): 1604-1609.
- [13] 黄 强, 朱玉德, 董 军, 等. 人脑胶质瘤组织中分离与培养肿瘤干细胞 [J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 28(5): 331-333.
- [14] Zhang Q B, Ji X Y, Huang Q, et al. Differentiation profile of brain tumor stem cells: a comparative study with neural stem cells [J]. Cell Res, 2006, 16(12): 909-915.
- [15] Kim C F, Jackson E L, Woolfenden A E, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer [J]. Cell, 2005, 121(6): 823-835.
- [16] Fang D, Nguyen T K, Leishear K, et al. A tumorigenic subpopulation with

- stem cell properties in melanomas [J]. *Cancer Res*, 2005,65 (20):9328-9337.
- [17] Collins A T, Berry P A, Hyde C, et al. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells [J]. *Cancer Res*, 2005,65 (23):10946-10951.
- [18] Atasi Y, Mowla S J, Ziaee S A, et al. OCT-4, an embryonic stem cell marker, is highly expressed in bladder cancer [J]. *Int J Cancer*, 2007,120 (7):1598-1602.
- [19] Passegue E, Jamieson C H, Ailles L E, et al. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100 (S1):11842-11849.
- [20] Dontu G, Al-Hajj M, Abdallah W M, et al. Stem cells in normal breast development and breast cancer [J]. *Cell Prolif*, 2003, 36(1):59-72.
- [21] Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche [J]. *Cell*, 2004, 116(6):769-778.
- [22] Lin H. The stem-cell niche theory: lessons from flies [J]. *Nat Rev Genet*, 2002,3(12):931-940.
- [23] Zhang J, Niu C, Ye L, et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size [J]. *Nature*, 2003,425 (6960):836-841.
- [24] Lin H. The self-renewing mechanism of stem cells in the germline [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1998,10 (6):687-693.
- [25] Song X Q, Zhu C H, Doan C, et al. Germline stem cells anchored by adherens junctions in the *Drosophila* ovary niches [J]. *Science*, 2002,296 (5574):1855-1857.
- [26] Song X Q, Xie T. DE-cadherin-mediated cell adhesion is essential for maintaining somatic stem cells in the *Drosophila* ovary [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002,99(23):14813-14818.
- [27] Arai F, Hirao A, Suda T. Regulation of hematopoiesis and its interaction with stem cell niches [J]. *Int J Hematol*, 2005,82(5):371-376.
- [28] Whetton A D, Graham G J. Homing and mobilization in the stem cell niche [J]. *Trends Cell Biol*, 1999,9 (6):233-238.
- [29] Morrison S J, Shah N M, Anderson D J. Regulatory mechanisms in stem cell biology [J]. *Cell*, 1997,88 (3):287-298.
- [30] Matsuda T, Nakamura T, Nakao K, et al. STAT3 activation is sufficient to maintain an undifferentiated state of mouse embryonic stem cells [J]. *EMBO J*, 1999,18(15):4261-4269.
- [31] Rattis F M, Voermans C, Reya T. Wnt signaling in the stem cell niche [J]. *Curr Opin Hematol*, 2004,11 (2):88-94.
- [32] Gat U, DasGupta R, Degenstein L, et al. De Novo hair follicle morphogenesis and hair tumors in mice expressing a truncated beta-catenin in skin [J]. *Cell*, 1998,95(5):605-614.
- [33] Huelsken J, Vogel R, Erdmann B, et al. beta-Catenin controls hair follicle morphogenesis and stem cell differentiation in the skin [J]. *Cell*, 2001,105(4):533-545.
- [34] Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer [J]. *Nature*, 2005,434(7035):843-850.
- [35] Lowell S, Jones P, Le Roux I, et al. Stimulation of human epidermal differentiation by delta-notch signalling at the boundaries of stem-cell clusters [J]. *Curr Biol*, 2000,10 (9):491-500.
- [36] Zhu A J, Haase I, Watt F M. Signaling via beta1 integrins and mitogen-activated protein kinase determines human epidermal stem cell fate *in vitro* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999,96(12):6728-6733.
- [37] Clarke M F, Fuller M. Stem cells and cancer: two faces of eve [J]. *Cell*, 2006,124(6):1111-1115.
- [38] Chepko G, Slack R, Carbo D, et al. Differential alteration of stem and other cell populations in ducts and lobules of TGFalpha and c-Myc transgenic mouse mammary epithelium [J]. *Tissue Cell*, 2005,37(5):393-412.
- [39] Kai T, Spradling A. An empty *Drosophila* stem cell niche reactivates the proliferation of ectopic cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100 (8):4633-4638.
- [40] Kai T, Spradling A. Differentiating germ cells can revert into functional stem cells in *Drosophila melanogaster* ovaries [J]. *Nature*, 2004,428(6982):564-569.
- [41] Nishimura E K, Jordan S A, Oshima H, et al. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination [J]. *Nature*, 2002,416 (6883):854-860.
- [42] Kaplan R N, Riba R D, Zacharoulis S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche [J]. *Nature*, 2005,438(7069):820-827.
- [43] Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand [J]. *Cell*, 2002,109 (5):625-637.
- [44] Curran S, Murray G I. Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis [J]. *J Pathol*, 1999, 189(3):300-308.
- [45] Crowe D L, Ohannessian A. Recruitment of focal adhesion kinase and paxillin to beta1 integrin promotes cancer cell migration via mitogen activated protein kinase activation [J]. *BMC Cancer*, 2004,4(1):18.
- [46] Lapidot T, Kollet O. The essential roles of the chemokine SDF-1 and its receptor CXCR4 in human stem cell homing and repopulation of transplanted immune-deficient NOD/SCID and NOD/SCID/B2m (null) mice [J]. *Leukemia*, 2002,16 (10):1992-2003.
- [47] Kang H, Watkins G, Douglas-Jones A, et al. The elevated level of CXCR4 is correlated with nodal metastasis of human breast cancer [J]. *Breast*, 2005,14(5):360-367.
- [48] Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells [J]. *Cancer Cell*, 2007,11(1):69-82.