

文章编号: 1004-0374(2011)08-0779-05

肿瘤干细胞与血管新生的研究进展

屈洪波, 吴诚义*

(重庆医科大学附属第一医院内分泌外科, 重庆 400016)

摘要: 肿瘤生长及转移依赖于新生血管的形成, 大量研究认为肿瘤干细胞与血管新生之间存在密切联系, 肿瘤干细胞可能转分化为内皮细胞参与新生血管生成, 并通过分泌促血管生长因子、基质衍生因子和低氧诱导因子参与对血管新生的调控。

关键词: 肿瘤干细胞; 血管新生; 血管内皮生长因子

中图分类号: R730.2; R394.2 **文献标志码:** A

Research and progress of cancer stem cells and angiogenesis

QU Hong-Bo, WU Cheng-Yi*

(Department of Endocrine Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Tumor growth and metastasis depend on angiogenesis. A great number of studies have shown that cancer stem cells can transdifferentiate into endothelial cells that participated in angiogenesis and also involved in angiogenesis regulation by secretion vascular endothelial growth factor, stromal derived factor and hypoxia inducible factor.

Key words: cancer stem cell; angiogenesis; vascular endothelial growth factor

随着肿瘤生物学的不断深入, 肿瘤的临床诊断及治疗水平有了明显提高, 但治疗后高转移和高复发仍是肿瘤临床治疗中一个亟待解决的难题。肿瘤的生长、转移及复发依赖于血管新生。最近, 肿瘤干细胞的分离、鉴定及其生物学行为的研究为肿瘤复发及转移机制的揭示, 乃至新的治疗策略的制定提供了新的线索。大量研究证实, 肿瘤干细胞的自我更新能力及多向分化潜能能在肿瘤发生、发展及血管新生中发挥着重要作用, 故深入探讨肿瘤干细胞与血管新生之间的关系为从“源头”上抑制肿瘤生长及复发转移具有重要的理论意义。

1 肿瘤干细胞与正常干细胞

2003年, Al-Hajj等通过特异性细胞表面标志物, 首次从人乳腺癌中分离纯化出乳腺癌干细胞(breast cancer stem cells, BCSC), 这种细胞以Lin⁻ESA⁺CD44⁺CD24^{-low}为特异细胞表面标志, 只占肿瘤细胞的2%。通过有限稀释法发现其在NOD/

SCID小鼠中成瘤的能力至少是其他肿瘤细胞的50倍, 即少于100个细胞也能在小鼠体内成瘤, 还能在体内连续传代。采用类似方法, 人们又相继从结肠癌、肝癌及前列腺癌等^[1-2]实体肿瘤中分离出肿瘤干细胞。随着研究的深入, 人们发现肿瘤干细胞具有许多与正常干细胞相似的特性^[3]: (1) 两者均不是处于分化途径的末端, 都具有相对无限的增殖潜能和自我更新能力, 增殖的同时可诱导血管形成; (2) 两者均具有两种分裂方式——对称分裂(形成两个相同的干细胞)和非对称分裂(即由于细胞质中调节分化蛋白不均匀地分配, 使得一个子细胞不可逆地走向分化的终端成为功能专一的分化细胞, 而另一个子细胞则保持亲代的特征, 仍作为干细胞保留下来); (3) 两者具有相似的调节生长的信号转导

收稿日期: 2011-03-27; 修回日期: 2011-05-26

*通信作者: E-mail: wuchengyi1192@163.com

途径；(4) 正常干细胞具有迁移的特性，癌细胞具有转移的能力。肿瘤干细胞与正常干细胞具有本质区别^[3]：(1) 正常干细胞的自我更新具有反馈调节机制，增殖和分化处于平衡有序的状态。肿瘤干细胞的增殖分化是无序的，失控的。(2) 肿瘤干细胞没有分化为成熟细胞的能力，其分化程序异常，这与有正常分化程序的干细胞有着本质的不同。(3) 正常干细胞的增殖具有自稳定性，当组织处于稳定状态时，平均一个干细胞产生一个子代干细胞和一个特定分化细胞，其干细胞总数保持恒定。肿瘤细胞无自稳定性的特点。

尽管目前对肿瘤干细胞的起源问题仍存在争议，但最近成体干细胞向多潜能干细胞的成功诱导，为肿瘤干细胞及内皮细胞来源的研究提供了新的线索，也为肿瘤干细胞参与血管新生的研究提供了新的思路^[4]。

2 肿瘤血管新生的调控机制

目前观点认为肿瘤血管新生经过以下几个环节：(1) 内皮细胞激活及血管内皮下基底膜降解；(2) 内皮细胞增殖及向肿瘤组织迁移；(3) 内皮细胞形成细胞条索及管腔结构。整个过程中除了肿瘤细胞与正常内皮细胞、细胞外基质相互作用外，还存在相关细胞参与细胞因子调节，其中细胞因子包括促血管生成因子和抑制血管生成因子，当两者间的平衡状态被打破，促血管生成因子表达高于抑制血管生成因子时，肿瘤血管便开始形成。因此，任何导

致内皮细胞增殖、分化、迁移和血管新生异常调控的因素均可能影响血管新生，而肿瘤干细胞具有与正常干细胞相似的功能。基于此，现从以下几个方面探讨肿瘤干细胞与血管新生相关因子的关系(图1)。

2.1 肿瘤干细胞与肿瘤血管新生之间的关系

正常组织中存在具有自我更新能力及多向分化潜能的成体干细胞群，成体干细胞的可塑性是生物体内普遍存在的现象。现已发现多种成体干细胞，如皮肤干细胞、神经干细胞、成脂干细胞等^[5-6]在特定的条件下可定向分化为内皮祖细胞或内皮细胞，缺氧和组织损伤是干细胞血管内皮分化的启动事件^[7]。那么，肿瘤干细胞是否也可转分化为血管内皮参与肿瘤血管发生，基于高侵袭性肿瘤具有多能的、胚胎样表型的研究结果，Bruno等^[8]的研究结果为成体干细胞经血管内皮分化参与肿瘤血管新生提供了直接的实验证据。他们发现自人正常肾组织和肾癌组织分离获得的CD133⁺肾上皮前体细胞具有干细胞的生物学特性，但无致瘤性，而当与K1肾癌细胞混合移植SCID/NOD小鼠后能明显增强癌细胞的致瘤能力，并促进移植瘤的生长。移植瘤体内实验发现肿瘤血管新生明显增加，结论认为CD133⁺肾上皮前体细胞在与肾癌细胞共培养下发生的血管内皮分化是其参与肾移植瘤血管新生进而促进移植瘤生长的重要分子机制。类似的，Ricci-Vitiani等^[9]在研究中发现，胶质母细胞瘤中部分内皮细胞具有与肿瘤细胞相同基因突变表型，如

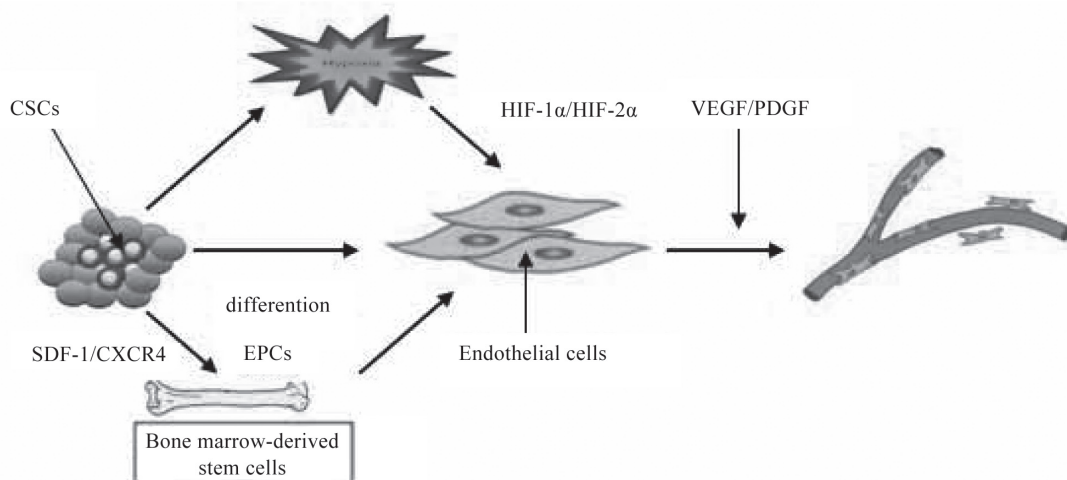


图1显示肿瘤干细胞高表达趋化因子(SDF-1/CXCR4等)。从而诱导内皮祖细胞向内皮细胞的迁移及分化；同时肿瘤干细胞在低氧诱导因子(HIF-1 α 或 HIF-2 α)的作用下，促使内皮细胞分泌促血管生成因子及趋化因子，影响血管新生，反过来血管内生长因子可促进肿瘤干细胞富集及血管新生。

图1 肿瘤干细胞与血管新生相关因子的关系

EGFR 及染色体 7 的扩增; 同时证实 CD133⁺ 干细胞亚群含有大量具有内皮细胞分化能力的 CD144⁺(VE-cadherin) 细胞表型。更广泛的体内、外的研究表明, CD133⁺ 肿瘤干细胞亚群具有分化为内皮细胞及肿瘤细胞的多潜能特性, 其机制可能是由 CD133⁺/CD144⁺ 祖细胞介导, 此结果同样在 CD133⁺ 肿瘤干细胞及其来源的内皮祖细胞的基因表达谱分析中得到证实。临床上应用抗血管新生抑制剂贝伐单抗、 γ -分泌酶抑制剂能够抑制内皮祖细胞分化为内皮细胞, 但是并不影响 CD133⁺ 分化为内皮祖细胞, 这可能是肿瘤抗血管新生治疗失败的一个重要原因。同样, Benedetta 等^[10] 在研究中发现 BCSC 不仅表达干细胞标志物, 如巢蛋白和 Oct-4, 还表达内皮细胞标志物, 当在培养基中加入血清后发现 BCSC 可向上皮细胞分化, 而加入血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 发现可向内皮细胞分化及表达内皮细胞标志物, 在基质胶中形成微血管结构; 而将乳腺球移植到 SCID/NOD 小鼠中发现人源化瘤内血管及血管网络的形成。结果表明, 乳腺癌干细胞不仅能向上皮细胞谱系分化还能向内皮细胞谱系分化, 进一步支持肿瘤干细胞同时具有致瘤性及成血管能力。Takahashi 和 Yamanaka^[11] 通过将 Oct-3/4、Sox2、c-Myc 和 Klf4 这四种转录因子基因克隆入病毒载体, 然后引入小鼠成纤维细胞, 发现其可转分化为诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPS), 并证实 iPS 细胞在形态、基因和蛋白表达、表观遗传修饰状态、细胞倍增能力和分化能力等方面都与胚胎干细胞相似。Yoshida 等^[12] 证实了低氧培养能够明显增加 iPS 克隆形成率, 表明通过降低培养环境的氧浓度能够高效地获取 iPS 细胞。总之, iPS 细胞的成功诱导为肿瘤干细胞转分化为内皮细胞提供了新的理论依据。

2.2 血管内皮生长因子在肿瘤干细胞诱导的血管新生中作用

VEGF 是最重要的促血管新生因子, 可特异性作用于血管内皮细胞生长因子受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR), 通过促进内皮细胞增殖, 增加血管通透性, 而诱导肿瘤血管新生。研究表明: 在小鼠胚胎发育期, 将 VEGF 基因或 VEGFR 基因敲除, 将因血管新生受阻而导致胚胎死亡^[13]。VEGF 在肿瘤血管新生中发挥重要作用, 高表达 VEGF 的肿瘤表现出对放、化疗的抵抗性^[14]。Bao 等^[15] 在胶质母细胞瘤实验中, 通过

比较胶质瘤干细胞亚群和非胶质瘤干细胞亚群生物学行为, 证实前者较后者具有更强的致瘤性和血管新生能力, 且与 VEGF 的高表达相关, 而应用血管新生抑制剂贝伐单抗能明显降低血管新生能力及肿瘤大小, 表明肿瘤干细胞通过分泌 VEGF 诱导血管新生。反之, VEGF 在肿瘤干细胞中高表达可通过改变局部微环境, 从而促进肿瘤干细胞富集及血管新生。Beckermann 等^[16] 在胰腺癌研究中发现, 高表达促血管生长因子 (VEGF、PDGF、EGF 等) 胰腺癌细胞对间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC) 有更强的趋化能力, 可诱导干细胞归巢, 而格列卫、阿伐斯汀等血管新生抑制剂能明显抑制 MSC 迁移入肿瘤组织和血管新生。总之, VEGF 在介导肿瘤干细胞与血管新生的过程中发挥桥梁作用, 靶向 VEGF 信号通路可成为抑制肿瘤血管的一种重要策略。

2.3 基质衍生因子在肿瘤干细胞诱导的血管新生中作用

基质细胞衍生因子 (stromal-derived factor-1, SDF-1) 又名 CXCL12, 可以促进肿瘤血管新生。体内实验发现, SDF-1 可以定向趋化血管内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 及刺激巨噬细胞等产生内皮细胞生长因子, 引起肿瘤血管新生。实体瘤中常存在乏氧区域, 这些乏氧肿瘤细胞可通过低氧诱导因子-1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 诱导下游多种细胞因子及其受体的表达进而诱导肿瘤血管新生, 其中包括 CXCR4、VEGF 等, 反过来, VEGF 可促进乳腺癌细胞产生 SDF-1。与 VEGF 相比, SDF-1 仅有弱的有丝分裂效应, 但有较强的趋化作用^[17]。Sutton 等^[18] 在研究中证实 VEGF 能促进血管内皮细胞 SDF-1 的表达, 而阻断 SDF-1/CXCR4 轴可以抑制 VEGF 依赖的血管新生作用。以上研究充分表明, SDF-1 及 VEGF 在促进血管新生中发挥协同作用。此外, SDF-1 在介导肿瘤干细胞及内皮祖细胞归巢过程中发挥重要作用, 肿瘤干细胞能沿着 SDF-1 浓度梯度趋化至高表达 SDF-1 的器官形成转移灶, 通过改变局部微环境 (包括间质上皮转化和瘤内血管新生等) 以利于后续肿瘤细胞定植。Krohn 等^[19] 发现, 在高侵袭性鼠乳腺癌 4TI 细胞株中绝大多数肿瘤干细胞表达 CXCR4, 当运用 CXCR4 的中和抗体或 shRNA 干扰使 CXCR4 表达沉默后, 乳腺癌干细胞成球能力明显降低。平轶芳等^[20] 在人胶质瘤干细胞的研究中证实, 恶性胶质瘤干细胞高表达功能性 CXCR4, 从而分泌更

多促血管新生因子 (VEGF、IL-8 等), 提示这些胶质瘤干细胞直接参与血管新生。类似的, Folkins 等^[21]在神经胶质瘤干细胞异种移植裸鼠模型中, 通过检测瘤体组织的微血管密度 (MVD)、血流量及募集 EPCs 潜能, 发现 CSC^{high} 亚群较 CSC^{low} 亚群明显增强; CSC^{high} 亚群诱导内皮细胞增殖及血管新生更明显, 并且高表达促血管内皮生成因子和 SDF-1, 而抑制相关促血管新生因子能够明显降低 MVD 和 EPCs 表达, 证实胶质瘤干细胞能够通过高表达 VEGF 和 SDF-1 募集 EPCs 参与血管新生。随着研究的深入, 在不影响正常生理的情况下, 靶向 SDF-1/CXCR4 轴有望成为今后抑制肿瘤转移及血管新生的一种重要途径。

2.4 低氧诱导因子在肿瘤干细胞诱导的血管新生中的作用

在众多调节肿瘤血管新生的因子中, 低氧引起 VEGF 表达上调已得到公认, 上调的 VEGF 可协助肿瘤细胞进入脉管系统, 从而增加肿瘤转移。在低氧调节 VEGF 的信号转导途径中, HIFs 起中枢纽带作用, HIFs 包括 HIF-1 α 和 HIF-2 α 两种不同亚型, 它们不仅使 VEGF mRNA 稳定性增加, 而且能增加 VEGF 的转录活性。宗建春和吴诚义^[22]对乳腺癌的研究证实了 HIF-1 α 蛋白水平与 VEGF mRNA 及蛋白表达呈显著正相关, 表明低氧具有调控 VEGF mRNA 及蛋白的能力。Bar 等^[23]在神经胶质瘤实验中证实, 低氧能够激活 HIF-1 α 和 HIF-2 α , 通过上调 VEGF 表达, 从而增加胶质瘤成神经球能力及血管新生能力, 并且维持胶质瘤干细胞未分化状态。反之, Méndez 等^[24]和 Fujiwara 等^[25]发现, 沉默 HIF-1 α 基因可明显降低胶质瘤血管新生能力、成神经球能力及侵袭转移能力。HIFs 除可诱导 VEGF 表达外, 还可诱导人内皮细胞环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2) 表达, 而 COX-2 及其合成产物前列腺素等可通过血小板源性生长因子、表皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子等多种途径调节血管新生。Chen 等^[26]在实验中证实, COX-2 在介导泌尿系上皮肿瘤的侵袭转移及低氧诱导 HIF-1 α 调节肿瘤血管新生过程中发挥关键作用。Petit 等^[27]在实验研究中发现低氧促进肿瘤细胞分泌 SDF-1, 从而诱导 CXCR4 的表达, 并被自身分泌的 SDF-1 激活, 其归巢效应驱使骨髓源性内皮祖细胞 (bone marrow endothelial progenitor cells, BMEPCs) 移行至肿瘤局部缺血区域, 证实低氧诱导的 HIF-1 α 通过活化 SDF-1/CXCR4 轴从而诱导 EPCs

迁移参与血管新生^[17,28]。尽管 HIFs 在低氧诱导的血管新生中的作用已基本明确, 但有关 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在此过程中是独立发挥作用还是协同作用有待进一步验证^[29-30]。

3 展望

综上所述, 肿瘤干细胞不仅可分化为内皮细胞参与血管新生, 而且通过分泌多种促血管新生因子参与血管新生调控。随着研究的深入, 越来越多的证据表明, 肿瘤干细胞具有与正常干细胞相似的特征, 这为我们进一步探讨肿瘤血管发生机制提供了新的切入点, 但仍有许多问题尚未阐明: (1) 肿瘤干细胞尚无特异性表面标志物及进一步纯化存在困难; (2) 肿瘤干细胞参与肿瘤发生和演进的分子机制尚不明确; (3) 肿瘤干细胞分化为血管内皮细胞的分子机制及其与正常组织干细胞可塑性的分子机制有何差异尚未清楚。因此, 深入研究肿瘤干细胞和血管新生调控之间的关系具有重要的临床意义。

[参 考 文 献]

- [1] Yang ZF, Ho DW, Ng MN, et al. Significance of CD90⁺ cancer stem cells in human liver cancer. *Cancer Cell*, 2008, 13(2): 153-66
- [2] Taylor RA, Toivanen R, Risbridger GP. Stem cells in prostate cancer: treating the root of the problem. *Endocr Relat Cancer*, 2010, 17(4): R273-85
- [3] Shackleton M. Normal stem cells and cancer stem cells: similar and different. *Semin Cancer Biol*, 2010, 20(2): 85-92
- [4] Kane NM, Xiao QZ, Baker AH, et al. Pluripotent stem cell differentiation into vascular cells: a novel technology with promises for vascular regeneration. *Pharmacol Ther*, 2011, 129 (1): 29-49
- [5] Harris LJ, Zhang P, Abdollahi H, et al. Availability of adipose-derived stem cells in patients undergoing vascular surgical procedures. *J Surg Res*, 2010, 163(2): e105-12
- [6] Suggs L, Natesan S, Zhang G, et al. A bilayer construct controls adipose derived stem cell differentiation into endothelial cells and pericytes without growth factor stimulation. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(7): 941-53
- [7] Li Z, Bao S, Wu Q, et al. Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells. *Cancer Cell*, 2009, 15(6): 501-13
- [8] Bruno S, Bussolati B, Grange C, et al. CD133⁺ renal progenitor cells contribute to tumor angiogenesis. *Am J Pathol*, 2006, 169(6): 2223-35
- [9] Ricci-Vitiani L, Pallini R, Biffoni M, et al. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells. *Nature*, 2010, 469(7325): 824-8

- [10] Benedetta B, Cristina G, Anna S, et al. Endothelial cell differentiation of human breast tumour stem/progenitor cells. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(2): 309-19
- [11] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by define factors. *Cell*, 2006, 126(4): 663-76
- [12] Yoshida Y, Takahashi K, Okita K, et al. Hypoxia enhances the generation of induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2009, 5(3): 237-41
- [13] Chi AS, Sorensen AG, Jain RK, et al. Angiogenesis as a therapeutic target in malignant gliomas. *Oncologist*, 2009, 14(6): 621-36
- [14] Oka N, Soeda A, Inagaki A, et al. VEGF promotes tumorigenesis and angiogenesis of human glioblastoma stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360(3): 553-9
- [15] Bao SD, Wu QL, Sathornsumetee S, et al. Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor. *Cancer Res*, 2006, 66(16): 7843-8
- [16] Beckermann BM, Kallifatidis G, Groth A, et al. VEGF expression by mesenchymal stem cells contributes to angiogenesis in pancreatic carcinoma. *Br J Cancer*, 2008, 99(4): 622-31
- [17] Ishikawa T, Nakashiro K, Klosek SK, et al. Hypoxia enhances CXCR4 expression by activating HIF-1 in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*, 2009, 21(3): 707-12
- [18] Sutton A, Friand V, Brulé-Donneger S, et al. Stromal cell-derived factor-1/chemokine (C-X-C motif) ligand 12 stimulates human hepatoma cell growth, migration, and invasion. *Mol Cancer Res*, 2007, 5(1): 21-33
- [19] Krohn A, Song YH, Muehlberg F, et al. CXCR4 receptor positive spheroid forming cells are responsible for tumor invasion *in vitro*. *Cancer Lett*, 2009, 280(1): 65-71
- [20] 平轶芳, 姚小红, 卞修武, 等. 人胶质瘤干细胞趋化因子受体CXCR4活化促进血管新生的作用. *中华病理学杂志*, 2007, 36(3): 179-83
- [21] Folkins C, Shaked Y, Man S, et al. Glioma tumor stem-like cells promote tumor angiogenesis and vasculogenesis via vascular endothelial growth factor and stromal-derived factor-1. *Cancer Res*, 2009, 69(18): 7243-51
- [22] 宗建春, 吴诚义. 低氧诱导人乳腺癌细胞VEGF的表达及机制. *重庆医科大学学报*, 2005, 30(2): 206-9
- [23] Bar EE, Lin A, Mahairaki V, et al. Hypoxia increases the expression of stem-cell markers and promotes clonogenicity in glioblastoma neurospheres. *Am J Pathol*, 2010, 177(3): 1491-502
- [24] Méndez O, Zavadil J, Esencay M, et al. Knock down of HIF-1 α in glioma cells reduces migration *in vitro* and invasion *in vivo* and impairs their ability to form tumor spheres. *Mol Cancer*, 2010, 9:133
- [25] Fujiwara S, Nakagawa K, Harada H, et al. Silencing hypoxia-inducible factor-1 α inhibits cell migration and invasion under hypoxic environment in malignant gliomas. *Int J Oncol*, 2007, 30(4): 793-802
- [26] Chen WT, Hung WC, Kang WY, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 in urothelial carcinoma in conjunction with tumor-associated-macrophage infiltration, hypoxia-inducible factor-1 α expression and tumor angiogenesis. *Apmis*, 2009, 117(3): 176-84
- [27] Petit I, Jin D, Rafii S. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neo-angiogenesis. *Trends Immunol*, 2007, 28(7): 299-307
- [28] Zagzag D, Lukyanov Y, Lan L, et al. Hypoxia-inducible factor-1 and VEGF upregulate CXCR4 in glioblastoma: implications for angiogenesis and glioma cell invasion. *Lab Invest*, 2006, 86(12): 1221-32
- [29] Ratcliffe PJ. HIF-1 and HIF-2: working alone or together in hypoxia? *Clin Invest*, 2007, 117(4): 862-5
- [30] Loboda A, Jozkowicz A, Dulak J. HIF-1 and HIF-2 transcription factors-similar but not identical. *Mol Cells*, 2010, 29(5): 435-42