



肿瘤干细胞与免疫微环境调控*

朱平平^{1)**} 靳水玲²⁾ 赵 奇²⁾ 范祖森^{3)**}⁽¹⁾ 郑州大学生命科学学院, 郑州 450001; ⁽²⁾ 郑州大学第一附属医院肿瘤科, 郑州 450052; ⁽³⁾ 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 肿瘤干细胞是肿瘤中一小群具有自我更新和分化能力的细胞, 是肿瘤发生、转移、治疗抵抗和复发的关键。肿瘤干细胞处于特定微环境中, 其数量维持、自我更新和分化均受到微环境的精细调控, 其中免疫微环境是肿瘤干细胞最关键的微环境之一。近年来肿瘤免疫疗法取得了较大成功, 但是免疫治疗后耐药和复发频现, 肿瘤干细胞与普通肿瘤细胞相比, 具有更强的免疫逃逸能力, 其在肿瘤免疫逃逸中的作用受到越来越多的关注。本文论述了肿瘤干细胞的发现历史和谱系来源, 重点描述了肿瘤干细胞微环境中的免疫细胞类型, 例如肿瘤浸润淋巴细胞、肿瘤相关巨噬细胞和肿瘤相关树突状细胞等, 剖析了肿瘤干细胞-免疫细胞相互作用机制, 并阐述了靶向肿瘤干细胞及其免疫微环境的干预策略。随着肿瘤干细胞-免疫细胞共培养、单细胞测序和谱系示踪等先进技术的发展和运用, 通过靶向肿瘤干细胞与免疫细胞的相互作用或逆转免疫抑制性微环境, 抑制肿瘤干细胞的免疫逃逸, 有望为肿瘤免疫治疗的耐药和复发难题提供潜在解决方案。

关键词 肿瘤干细胞, 自我更新, 免疫微环境, 肿瘤免疫**中图分类号** R73**DOI:** 10.16476/j.pibb.2024.0246

1 肿瘤干细胞的发现

肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 又称为肿瘤起始细胞, 是肿瘤中一小群具有自我更新和分化潜能的细胞, 具有高度的致瘤性, 也是肿瘤异质性的重要来源^[1]。肿瘤干细胞在肿瘤发生、增殖、转移和复发中发挥重要作用: 肿瘤干细胞通过自我更新和无限增殖来维持肿瘤细胞群的活力, 同时具有移动和迁移的能力, 这使得肿瘤转移成为可能。CSCs 处于特定微环境中, 可长期处于休眠状态, 具有多种治疗抵抗的分子机制, 对杀伤肿瘤细胞的外部物理化学因素不敏感^[2]。

肿瘤干细胞的概念最早形成于 19 世纪, 起源于德国病理学家鲁道夫·魏尔肖 (Rudolf Virchow) 的《细胞病理学》和德国病理学家尤利乌斯·科恩海姆的病例报告。癌症的“种子和土壤假说”最早是由英国外科医生 Steven Paget 在 1889 年的一篇开创性论文中提出的。1994 年, Dick 等^[3] 通过对血液恶性肿瘤干细胞的深入研究, 不仅证实了肿瘤细胞的异质性, 还提出了肿瘤是分层组织的假设。1997 年, Bonnet 和 Dick^[4] 首次在急性髓性白血病

(AML) 中发现了 CD34⁺CD38⁻ 肿瘤干细胞, 这是肿瘤干细胞研究领域的重大突破。2001 年, Reya 等^[5] 提出当代肿瘤干细胞理论, 认为肿瘤组织中存在少数具有干细胞特性的肿瘤干细胞, 具有无限的自我更新、多向分化潜能和高增殖能力, 可产生不同表型的肿瘤细胞。这些早期研究初步证明, 肿瘤组织中的大部分细胞可能来源于其中一些具有干细胞特性的亚群, 即肿瘤干细胞。实际上, 肿瘤干细胞理论类似于 19 世纪提出的胚胎静止假说, 认为是静止胚胎的残余被激活导致癌症, 这一假说在当时得到了许多实验的支持。

2003 年, Al-Hajj 等^[6] 首次从实体肿瘤组织中分离鉴定出肿瘤干细胞。他们从乳腺癌病理组织标本中制作单细胞悬浮液, 并用 CD44⁺CD24⁻ 筛选出肿瘤干细胞, 发现这些细胞在小鼠体内具有独特的

* 河南省科技研发计划联合基金 (优势学科培育类) (222301420016), 国家重点研发计划 (2020YFA0803501) 和国家自然科学基金 (U23A20459) 资助项目。

** 通讯联系人。

朱平平 Tel: 0371-67783235, E-mail: zhup@zzu.edu.cn

范祖森 Tel: 010-64888457, E-mail: fanz@moon.ibp.ac.cn

收稿日期: 2024-06-07, 接受日期: 2024-08-16

成瘤能力,并且具有很强的致瘤性(只有100个具有这种表型的细胞可以在小鼠体内形成肿瘤,而成千上万具有其他表型的细胞却不能形成肿瘤)。他们称这些细胞为致瘤细胞或致癌细胞,因为它们能持续形成肿瘤,而其他肿瘤细胞群却缺乏能够形成肿瘤的细胞研究结果,该研究提供了一个以前未表征的乳腺肿瘤生物学模型,其中定义的细胞亚群驱动肿瘤发生并产生肿瘤细胞异质性。

2 肿瘤干细胞表面标志物

目前,人们在大多数肿瘤类型中鉴定出了肿瘤干细胞。随着测序技术、单细胞测序技术、谱系示踪技术、遗传小鼠模型、流式细胞术和功能实验的进步,人们在多种肿瘤中鉴定出肿瘤干细胞的表面标志物,其中CD44、CD13、CD133、上皮细胞黏附分子(EpCAM)和Lgr5等为常见的表面标志物,由于篇幅限制,本文重点描述上述几种表面标志物。

2.1 CD44

CD44是一种多用途的跨膜糖蛋白,作为透明质酸和多种细胞因子的受体^[7],介导细胞间以及细胞与外基质之间的黏附^[8],已被确定为多种常见CSCs的表面标记物。CD44作为结直肠癌的标志物,作用于Wnt-catenin信号通路,其过表达是结直肠腺瘤转变为癌的早期事件^[9]。除了促进肿瘤肾小球功能外,CD44本身作为细胞质膜受体,可与ABC转运泵蛋白连接,将化疗药物从细胞内泵到细胞外,从而促进肿瘤细胞对化疗药物的治疗抵抗。

2.2 CD13

CD13在肝癌干细胞中高表达,与肝癌的静息态和治疗抵抗密切相关。CD13⁺肿瘤干细胞能够抵抗化疗等治疗,阻断CD13能够抑制肝癌干细胞的自我更新和肿瘤起始能力,因此针对CD13的靶向治疗药物能够提高肿瘤的治疗效果,克服肝癌的治疗抵抗问题^[10]。另外,靶向肿瘤干细胞的CD13还能够抑制肿瘤血管生成,说明CD13是肿瘤干细胞和肿瘤的重要干预靶点^[11]。

2.3 CD133

CD133最初发现于人造血干细胞和祖细胞中,后来被广泛认为是肝脏、结直肠、前列腺和胰腺等实体肿瘤中肿瘤干细胞的标志物^[12]。通过RNA干扰技术敲低CD133基因后,抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭等,说明CD133不仅仅是结直肠癌干

细胞的标记物,也拥有重要的生物学功能^[13]。

2.4 EpCAM

EpCAM最早在结直肠癌中被发现。其生理功能包括上皮内同型细胞性Ca²⁺非依赖性细胞间黏附,细胞信号转导、增殖、分化、迁移和肿瘤发生^[14],例如,通过启动c-Myc、cyclin A和cyclin E作为直接影响细胞周期和细胞增殖的转录因子^[15]。EpCAM在结直肠癌中的作用机制表现为Wnt-catenin信号通路的靶基因之一,EpCAM过表达可激活Wnt-catenin信号通路,进而激活一系列下游靶基因,参与肿瘤干细胞特性的维持^[16]。

2.5 Lgr5

Lgr5于2007年首次被确认为肠道干细胞的标志物^[17],此后科学家发现,在侵袭性肠腺瘤、侵袭性肠腺瘤和上腔肿瘤的侵袭性病变中,Lgr5⁺细胞在高度增殖时表现出一定的CSC潜能迹象^[18],这可能与驱动肿瘤扩张和侵袭作用有关。克隆图谱分析显示,Lgr5⁺细胞驻留在肿瘤中直接促进肠上皮细胞生长,为Lgr5促进CSCs提供了更明确的证据^[19]。

2.6 小结

上述表面标志物的鉴定极大地促进了肿瘤干细胞的研究,然而多项研究表明,一种标志物在分离鉴定肿瘤干细胞时存在局限性。Wang等^[20]发现,可以将CD133和CD13结合起来用于鉴定肝癌干细胞,CD133⁺CD13⁺双阳性肝癌干细胞比单阳性干细胞具有更强的肿瘤起始和自我更新能力。

3 肿瘤干细胞起源

肿瘤干细胞的起源是干细胞研究的重点领域,也是深入认识肿瘤干细胞的基础。遗传标记、谱系失踪和单细胞测序等新技术的发展,为肿瘤干细胞的起源研究提供了新策略。最新研究表明,不同类型肿瘤干细胞的起源存在异质性。多项结直肠癌Lgr5谱系示踪结果显示,所有肠癌细胞(包括肠癌干细胞)都来源肠道干细胞的癌变,非肠道干细胞的癌变无法成瘤^[21-22]。这是由肠道特殊的结构和增殖状态决定的:肠上皮由具有吸收功能的肠道吸收细胞和具有分泌功能的肠道分泌细胞组成,而这些成熟的细胞均是由处于隐窝底部的肠道干细胞分化产生的,肠上皮更新速度很快(平均3~5 d更新一次),因此成熟细胞中的基因突变无法有效传递给后代,因此无法成瘤,只有肿瘤干细胞的突变才能够积累形成肿瘤^[23]。Yang等^[24]利用单细胞组

学技术, 解析了膀胱癌干细胞的起源, 发现膀胱癌干细胞来源的多样性: 膀胱癌干细胞可以由正常干细胞癌变而来, 也可以由肿瘤细胞去分化而来。

不管是正常组织干细胞癌变形成肿瘤干细胞, 还是肿瘤细胞去分化形成肿瘤干细胞, 都涉及到细胞命运的可塑性和癌变重编程。基因突变在癌变重编程中发挥关键作用, 人们也在肿瘤干细胞中鉴定出了多种癌基因的激活突变和抑癌基因的失活突变, 包括 *TP53*、*PTEN*、*RAS* 等突变在多种肿瘤干细胞中出现, 腺瘤性结肠息肉病基因 *APC* 仅在肠癌中高频突变。近年来, 表观遗传在肿瘤干细胞命运决定中的作用受到了大家的关注。本综述重点论述肿瘤干细胞的癌变重编程机制, 特别是表观遗传机制。

4 肿瘤干细胞癌变的表观遗传机制

基因表达的表观遗传学调控已经得到了详细的研究, 发现 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA (ncRNA) 介导了许多与癌症发生相关的重要生物学过程, 在几乎所有组织中调控着基因表达和细胞可塑性^[25-26]。

大量研究表明, DNA 甲基化可以引起染色质结构、DNA 构象、DNA 稳定性以及 DNA 与蛋白质相互作用方式的改变, 从而控制基因表达^[27]。DNA 甲基化通常与基因沉默有关, 非甲基化通常与基因激活有关, 而去甲基化通常与沉默基因的再激活有关。在各种癌症中, DNA 超甲基化也与肿瘤抑制基因和分化基因的沉默有关^[28]。这些基因表达的减少可能有助于肿瘤细胞群中 CSCs 的形成。大约 25% 的急性髓性白血病 (AML) 患者发生 DNMT3A 突变, 常见突变为 DNMT3A R82H^[29]。

非编码调控元件和 ncRNA 已经成为肿瘤干细胞研究的热点, 其中长链非编码 RNA (lncRNA) 和环状 RNA (circRNA) 的研究最为深入 (表 1)。Wang 等^[20] 在国际上率先鉴定出 ncRNA *LncTCF7* 可以调控肿瘤干细胞的功能, *LncTCF7* 在肝癌干细胞中高表达, 招募 SWI/SNF 复合物到 *TCF7* 启动子区域, 促进 *TCF7* 的表达和 Wnt 通路活化, 最终促进肝癌干细胞的自我更新。随后, 人们在多种肿瘤干细胞中鉴定出功能性 ncRNA, 包括 lncRNA 和 circRNA 等。其中, *Lnc-β-Catm* 能够作为分子支架, 促进 β -catenin 和 EZH2 的相互作用, EZH2 做

为甲基转移酶促进 β -catenin 的甲基化修饰, 而 β -catenin 的甲基化能够抑制其磷酸化和泛素化, 促进 β -catenin 的稳定性, 最终促进 Wnt 通路活化和肝癌干细胞自我更新^[30]。*LncBRM* 能够特异性地和 BRM 结合, 抑制 BRM 类型 SWI/SNF 复合物的组装, 促进 BRG1 类型复合物的组装, BRG1-BRM 复合物的类型转换促进了下游靶基因 *Klf4* 的表达, 最终促进 Yap 通路的活化和肝癌干细胞的自我更新^[31]。*LncHDAC2* 与 NuRD 复合物相互作用, 能够招募 NuRD 复合物到 *PTCH1* 启动子区域, 抑制 *PTCH1* 的表达, 通过 SMO-Gli 途径促进了 Hedgehog 信号通路的活化和肝癌干细胞的自我更新^[32]。*HAND2-AS1* 则能够将 INO80 染色质重塑复合体招募到 *BMPRI1A* 启动子上, 通过重塑 *BMPRI1A* 的启动子促进 *BMPRI1A* 的表达, 最终促进 BMP 信号通路和肝癌干细胞的自我更新^[33]。*LncGata6* 在肠道干细胞和肠癌干细胞中高表达, 招募 NuRF 染色质重塑复合物到 EHF 启动子区域, 促进 EHF 的表达, EHF 则进一步促进 *Lgr4* 和 *Lgr5* 的表达, 最终促进肠癌干细胞的自我更新^[34]。上述的系统研究表明, lncRNA 是肿瘤干细胞功能的重要调控者。

除了系统地研究 lncRNA 在肿瘤干细胞中的作用, 研究者深入剖析了 circRNA 对肿瘤干细胞的调控作用。Chen 等^[35] 发现, *Cia-MAF* 在肝癌干细胞中高表达, 可以招募 TIP60 染色质重塑复合物到 *MAFF* 启动子区域, 促进 *MAFF* 的表达和肝癌干细胞的自我更新, *MAFF* 可以作为 *MAFA/MAFG* 拷贝数非扩增型肝癌的干预靶点, 而对 *MAFA/MAFG* 拷贝数扩增型肝癌作用有限。*CircIPO11* 在肝癌中高表达, 将拓扑异构酶 TOP1 招募到 *GLI1* 启动子区域, 促进 *GLI1* 启动子的染色质开放性, 促进 *GLI1* 的表达, 从而激活 Hedgehog 信号通路活化^[36]。*cis-HOX* 在肠癌干细胞中高表达, 与 *HOXC10* mRNA 结合, 屏蔽了 KSRP 和 *HOXC10* mRNA 的结合位点, 最终促进了 *HOXC10* mRNA 的稳定性, *HOXC10* 进一步通过靶向 *FZD3* 促进 Wnt 通路活化和肠癌干细胞自我更新^[37]。有关 ncRNA 在肿瘤干细胞中的详细作用, 读者可以参考相关的一些高水平综述^[38-39], 其中, Kyriazi 等^[38] 的综述重点聚焦 ncRNA 在肿瘤干细胞中的作用, 而 Zhu 等^[39] 的综述则关注了 ncRNA 在肿瘤发生和肿瘤治疗中的作用。

Table 1 Non-coding RNAs involved in cancer stem cell regulation
表1 参与调控肿瘤干细胞功能的非编码RNA

名称	瘤种	相互作用分子	靶基因	功能	参考文献
<i>LncTCF7</i>	肝癌	SWI/SNF	<i>TCF7</i>	促进Wnt活化和肝癌干细胞功能	[20]
<i>Lnc-β-Catm</i>	肝癌	EZH2	<i>β-catenin</i>	促进β-catenin 稳定和Wnt活化	[30]
<i>LncBRM</i>	肝癌	BRM	<i>Klf4</i>	促进Yap活化和肝癌干细胞功能	[31]
<i>LncHDAC2</i>	肝癌	NuRD	<i>PTCH</i>	促进HH活化和肝癌干细胞功能	[32]
<i>HAND2-AS1</i>	肝癌	INO80	<i>BMPRI1A</i>	促进BMP活化和肝癌干细胞功能	[33]
<i>LncGata6</i>	肠癌	NuRF	<i>EHF</i>	促进Lgr4/5表达和肠癌干细胞功能	[34]
<i>cia-MAF</i>	肝癌	TIP60	<i>MAFF</i>	促进MAFF表达和肝癌干细胞功能	[35]
<i>CircIPO11</i>	肝癌	TOP1	<i>GLI1</i>	促进SHH活化和肝癌干细胞功能	[36]
<i>cis-HOX10</i>	肠癌	HOXC10	<i>FZD3</i>	促进Wnt活化和肠癌干细胞功能	[37]
<i>PKMYT1AR</i>	肺癌	miR-485-5p	<i>PKMYT1</i>	促进Wnt活化和肺癌干细胞功能	[40]
<i>circFBXW7</i>	肺癌	-	<i>β-catenin</i>	促进β-catenin降解, 抑制干性	[41]
<i>Circ-0075305</i>	胃癌	miR-708-5p	<i>RPRD1A</i>	抑制Wnt活化、Sox9表达和干性	[42]
<i>FEZF1-AS1</i>	胃癌	miR-363-3p	<i>HMG A2</i>	促进HMG A2表达和胃癌干性	[43]
<i>lnc030</i>	乳腺癌	PCBP2	<i>SQLE</i>	促进乳腺癌干细胞的干性	[44]
<i>circBACH1</i>	乳腺癌	miR-217	<i>G3BP2</i>	促进乳腺癌干细胞的干性	[45]

5 肿瘤干细胞的免疫微环境

肿瘤免疫治疗起源于血液系统肿瘤，最近在实体瘤治疗中也取得了巨大成功，其本质是改变肿瘤的免疫微环境，通过重新激活肿瘤病人自身的免疫杀伤能力，识别并清除肿瘤细胞。然而和传统治疗一样，肿瘤在经过免疫治疗后伴随着较高的复发率。越来越多的研究显示，肿瘤干细胞是肿瘤免疫治疗后复发的关键细胞。肿瘤干细胞是肿瘤中特有的一小群细胞，具有相对独特的免疫微环境。肿瘤干细胞与免疫微环境细胞存在着复杂的相互作用，肿瘤干细胞通过上调免疫检查点分子，分泌免疫抑制性细胞因子等方式抑制免疫微环境细胞的抗肿瘤活性，实现免疫逃逸^[46]。同时，处于免疫抑制条件下的微环境细胞分泌的多种信号分子能够促进肿瘤干细胞的生长和自我更新，增强肿瘤干细胞对放化疗的耐受性。深入理解肿瘤干细胞与免疫微环境细胞的相互作用，开发出消除CSC并逆转其免疫抑制微环境的新疗法，有望从根本上清除肿瘤并克服免疫治疗之后的复发难题。

免疫微环境细胞包括肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs)、肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)、肿瘤相关树突状细胞(tumor associated dendritic cells, TADCs)等多种免疫细胞，它们在构成免疫

微环境的同时，能够调节肿瘤干细胞，促进肿瘤的发生与进展。

5.1 肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)

TILs 包括 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞以及调节性 T 细胞 (Treg)，不同亚型 T 细胞与肿瘤干细胞的相互作用在肿瘤的免疫逃逸、治疗抵抗以及干性维持中扮演关键角色。CD8⁺T 细胞作为细胞毒性 T 细胞，通过分泌穿孔素、颗粒酶等细胞毒性分子杀伤肿瘤细胞^[47]。然而肿瘤干细胞能够通过多个方式逃避 CD8⁺T 细胞的肿瘤杀伤效应。肠癌干细胞表面表达低水平的 MHC I 类分子和高水平的 PD-L1，从而逃避 CD8⁺T 细胞的识别与杀伤。此外，肠癌干细胞能分泌高水平的白介素(interleukin, IL)-4，而 IL-4 能够抑制 T 细胞的增殖^[48-49]。在乳腺癌和卵巢癌中也发现，肿瘤干细胞比正常肿瘤细胞表达更高水平的 PD-L1 来逃逸免疫应答^[50-51]。Miao 等^[52] 针对鳞状细胞癌，从机制上阐明肿瘤干细胞能够以 TGF-β 依赖的方式上调 CD80 的表达，CD80 能够与细胞毒性 T 淋巴细胞表面的 CTLA4 结合抑制其活性(图 1a)。CD4⁺T 细胞能分泌 IL-22，IL-22 通过激活 STAT3，促进 H3K79 甲基转移酶 DOT1L 的表达来提高肠癌干细胞的干性^[53]。You 等^[54] 发现，卵巢肿瘤干细胞表达高水平的趋化因子 CCL5 用以招募 Treg 细胞，并且卵巢肿瘤干细胞能够促进受招募的 Treg 细胞分泌更多的 IL-10 来抑

制抗肿瘤免疫。肠癌组织中的Treg细胞分泌的IL-17, 能够通过AKT和MAPK信号增强肠癌干细胞的干性^[55]。

5.2 肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs)

TAMs是肿瘤微环境中重要的免疫细胞, 近年研究表明, TAMs在塑造肿瘤干细胞的免疫抑制性微环境中发挥着重要作用。在肝癌中, TAMs通过分泌TGF-β1和IL-6, 其中TGF-β1能够诱导上皮间质转化(EMT)来增强肝癌细胞的干细胞特性, 而IL-6能够通过STAT3信号促进肝癌干细胞的扩增^[56-57]。Lu等^[58]在乳腺癌中发现了TAMs能够与乳腺癌干细胞直接接触, 介导Src和NF-κB的激活, 这促使乳腺癌干细胞分泌多种细胞因子, 这些细胞因子能够维持肿瘤干细胞状态。Shi等^[59]在神经胶质瘤中发现, TAMs能够分泌丰富的多营养素(pleiotrophin, PTN), 通过PTN-PTPRZ1旁分泌信号促进胶质瘤干细胞的生长。而在胰腺癌中, TAMs高表达CD51, 通过调节TGF-β1/smad2/3轴来促进胰腺癌干细胞生长^[60]。M2型TAMs作为促进肿瘤发生发展的微环境细胞亚群, 参与T细胞活性抑制、肿瘤免疫逃逸等过程。Tao等^[61]发现, 胶质瘤干细胞能分泌Wnt1诱导信号通道蛋白1(WISP1), 而WISP1能够促进免疫抑制性M2型TAMs的存活(图1b)。JMJD8作为M2型TAMs的

潜在标志物, 被发现与肠癌干细胞的干性维持、治疗抵抗和免疫抑制呈明显正相关^[62]。

5.3 肿瘤相关树突状细胞 (TADCs)

TADCs在免疫微环境中往往发挥着免疫抑制作用, 在肠癌组织中, TADCs能产生较高的趋化因子CXCL1, CXCL1增强肠癌细胞干性调控因子NANOG、OCT4、SOX2和MYC的表达并且促进肿瘤转移^[63-64]。Hsu等^[65]的研究发现, 肺癌和乳腺癌细胞能够刺激TADCs分泌高水平的CC趋化因子配体2(C-C motif chemokine ligand 2, CCL2), CCL2能够促进肿瘤干性的维持。此外, 肿瘤干细胞能够影响微环境中树突状细胞的成熟。肝癌干细胞能够分泌TGF-β1来抑制成熟树突状细胞的产生, 增加耐受性树突状细胞的数量^[66]。相似地, 肾癌干细胞通过分泌携带HLA-G的细胞外囊泡能够抑制树突状细胞的成熟^[67](图1c)。

5.4 骨髓源性抑制细胞 (MDSCs) 和中性粒细胞

骨髓源性抑制细胞(myeloid derived suppressor cells, MDSCs)能以旁分泌途径通过IL6/STAT3和NO/NOTCH信号调节乳腺癌干细胞特性^[68](图1d)。在卵巢癌中, MDSCs能够触发卵巢癌细胞中miRNA101的表达促进肿瘤细胞干性的增强^[69]。Panni等^[70]也发现, 经MDSCs共培养后的胰腺恶性肿瘤细胞干性明显增强, 这与STAT3

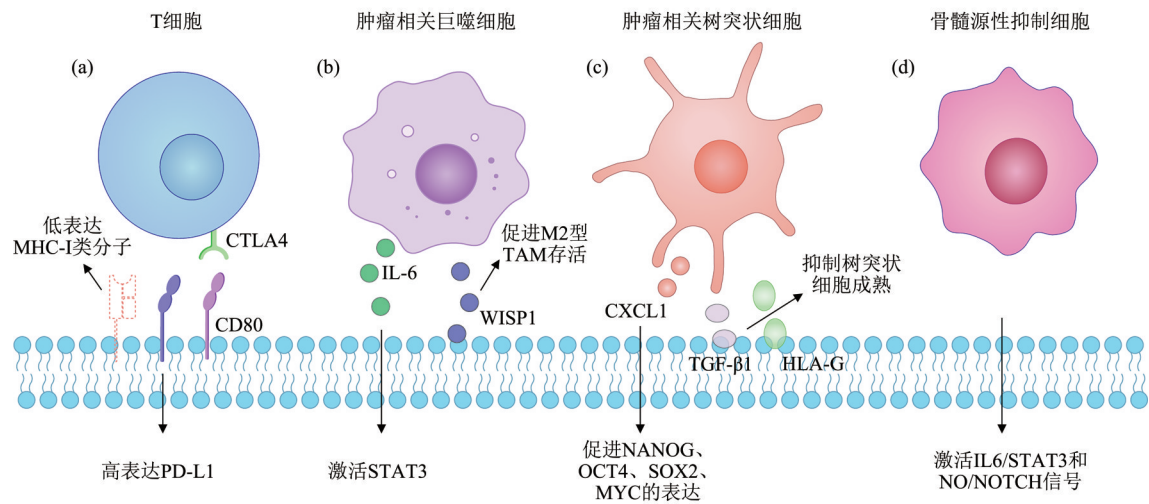


Fig. 1 Cross-talk between cancer stem cells and their immune niche

图1 肿瘤干细胞及其与免疫微环境的相互作用

(a) 肿瘤干细胞高表达PD-L1分子, 低表达MHC-I类分子产生免疫逃逸; 同时肿瘤干细胞能上调CD80, CD80与T细胞表面CTLA4结合抑制其免疫活性。(b) 肿瘤相关巨噬细胞分泌IL-6激活肿瘤干细胞STAT3信号, 维持肿瘤干细胞干性; 肿瘤干细胞分泌的WISP1能够促进M2型肿瘤相关巨噬细胞存活。(c) 肿瘤相关树突状细胞产生趋化因子CXCL1, 增强肠癌细胞干性调控因子NANOG、OCT4、SOX2和MYC的表达, 促进肿瘤转移; 肿瘤干细胞分泌的TGF-β1和HLA-G能够抑制树突状细胞的成熟。(d) 骨髓源性抑制细胞能够以旁分泌途径通过IL6/STAT3和NO/NOTCH信号调节肿瘤干细胞特性。

信号通路增强相关。肠癌干细胞分泌的趋化因子 CXCL1、CXCL2, 能够招募表达 CXCR2 的中性粒细胞。这些中性粒细胞一方面通过分泌 IL-1 β 促进肠癌干细胞的增殖, 另一方面通过降低 IL-2 的表达来减弱 T 细胞的免疫活性^[71]。

6 肿瘤干细胞的靶向干预

6.1 表面受体和表观遗传因子的靶向

由于肿瘤干细胞在肿瘤发生、转移、治疗抵抗和复发过程中的关键作用, 人们开发出多种靶向策略用于肿瘤干细胞的干预, 其中靶向表面受体、表观遗传因子和信号通路的研究最为透彻。其中, 肿瘤干细胞相关的信号通路在多个综述中已经详细论述^[72-73], 本综述重点关注表面受体和表观遗传因子的靶向(表2)。

表面受体的靶向主要使用中和抗体、多肽和嵌合抗原受体 T 细胞免疫治疗(chimeric antigen receptor T cell immuno-therapy, CAR-T)等策略。抗体方面, 多家实验室评估了 Lgr5 高亲和性单抗 BNC101 对肠癌的治疗效果, 发现 BNC101 具有抗肿瘤活性, 在肠癌 PDX 模型中延长荷瘤小鼠的生存时间^[74-75]。Lgr5 配体 RSPO3 的抗体能够诱导 PTPRK-RSPO3 融合型肠癌的分化和干性丢失, 并进一步抑制肿瘤生长^[76]。靶向肠癌干细胞标志物前胃泌素(Progastrin)的单抗 Hz8CV2 能够通过阻断 Wnt/ β -catenin 信号通路, 抑制肿瘤干细胞和肿瘤的生长、侵袭和转移。Hz8CV2 和 5-Fu 的联合用药与单独使用 5-Fu 相比, 表现出令人鼓舞的治疗效果, 证实了 Hz8CV2 作为一种潜在的治疗结直肠癌的新方法^[77]。Junttila 等^[78]利用 DNA 免疫策略, 制备了 Lgr5 抗体 8E11, 并对 8E11 抗体进行了人源化改造, 利用改造后的 hu8E11v2 抗体制备了两种 Lgr5 抗体耦联药物(hu8E11v2-vc-MMAE 和 hu8E11v2-NMS818), 发现两种抗体耦联药物均能够抑制肠癌细胞系的扩增, 伴随着截然不同的副作用: hu8E11v2-vc-MMAE 没有肠道副作用, 而 hu8E11v2-NMS818 则有较为严重的肠道副作用和体重下降。这主要是由于抗体耦联药物的旁观者效应和 NMS818 对增殖细胞更强的毒性(相比 MMAE, NMS818 对增殖细胞的毒性强 10~100 倍)。hu8E11v2-vc-MMAE 在小鼠 AKV ($APC^{min/+}$; $Kras^{LSL-G12D/+}$; Villin-Cre) 肠癌模型中, 也能够抑制肿瘤生长并延长小鼠生存时间^[78]。CD13 的单克隆抗体 TEA1/8 和微管/微管蛋白聚酮抑制剂

PM050489 的耦联制剂能够特异地诱导 CD13 阳性肿瘤干细胞发生细胞周期停滞, 并诱发细胞死亡, 而对 CD13 阴性的细胞没有杀伤作用, 保证了抗体耦联药物的安全性^[79]。EpCAM/CD3 双特异性抗体 MT110 能够与人 T 细胞结合, 有效地清除结直肠癌干细胞^[80]。

除了抗体, 多肽药物由于肿瘤渗透性好、分子质量小、容易制备等优势, 在肿瘤靶向中受到了越来越多的关注。人们通过噬菌体肽库筛选的策略, 制备出 CD133 的靶向肽 LS-7 (序列 LQNAPRS), LS-7 能够作用于 c-Met 和 STAT3, 显著抑制乳腺癌和肠癌的干性和迁移能力^[81]。除了多肽本身可以发挥作用, 多肽还可以与其他药物(前药)耦联, 发挥协同作用, CD133 和光动力疗法增敏剂焦脱镁叶绿酸 a (pyropheophorbide-a, Pyro) 耦联形成的 CD133-Pyro, 对结直肠癌细胞系、PDX 小鼠模型的肿瘤生长有显著的抑制作用, CD133-Pyro 能够促进活性氧类(ROS)生成和肠癌干细胞的自噬性死亡, 抑制肿瘤干细胞的干性^[82]。

6.2 DNMT抑制剂和HDAC抑制剂的靶向用途

近年来, 随着表观遗传学药物研究的深入, 特别是 DNA 甲基转移酶和组蛋白去乙酰化抑制剂在多种血液肿瘤中的应用, 表观遗传学已成为肿瘤和肿瘤干细胞治疗研究的热点^[83]。常见的药物类型包括 DNA 甲基转移酶抑制剂(DNMT抑制剂)、组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDAC抑制剂)、组蛋白甲基转移酶抑制剂(HMT)、组蛋白去甲基化酶抑制剂(HDM)和 BET 抑制剂^[84]。本综述重点关注 DNMT 抑制剂和 HDAC 抑制剂在肿瘤及其干细胞中的靶向用途。

目前, 两种 DNMT 抑制剂阿扎胞苷和地西他滨被 FDA 批准用于治疗骨髓增生异常综合征(MDS), 但其细胞毒性作用仍然很大^[85-86]。近期研究发现, 低剂量 DNMT 抑制剂在维持白血病和上皮性肿瘤细胞中 DNA 甲基化的减少和相关沉默基因的重新表达方面具有较好的效果^[87-89]。此外, DNMT 抑制剂和免疫治疗联合可以触发更有效的抗肿瘤免疫应答, 克服与免疫检查点相关的治疗抵抗, 这可能是一种可行的策略^[90-91]。

组蛋白乙酰化可以中和赖氨酸残基上的正电荷, 减少组蛋白与 DNA 之间的静电相互作用, 从而形成开放的染色质状态, 转录因子更容易与 DNA 结合^[92]。在肿瘤细胞和肿瘤干细胞中, HDAC 的过表达导致去乙酰化的增强。通过恢复组

蛋白的正电荷, DNA 和组蛋白之间的引力增加, 松散的核小体变得非常致密, 不利于抑癌基因的表达, 在多种肿瘤和肿瘤干细胞中发现, HDACs 的表达上调, 组蛋白乙酰化水平发生改变^[93-95]。随着对 HDAC 与癌症关系研究的深入, 人们发现, 抑制 HDAC 的活性, 增加染色质特定区域组蛋白乙酰化, 激活某些基因的转录, 增加 *P21*、*P53* 等基因的表达水平, 可以达到抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤干细胞分化或凋亡的目的, 具有相对高选择性和低毒性的特点^[96]。

7 肿瘤干细胞免疫微环境的干预策略

如同种子离不开土壤一样, 肿瘤干细胞的一切功能离不开微环境, 因此越来越多的研究聚焦于肿瘤干细胞的微环境靶向。然而, 现有肿瘤微环境研究主要集中在肿瘤群体层面, 肿瘤干细胞特异性的

微环境研究刚刚起步, 肿瘤干细胞特异的免疫微环境干预策略相对欠缺^[97]。

随着 CAR-T 技术的发展, 多种针对肿瘤干细胞的表面标志物的 CAR-T 被开发出来, 成为肿瘤干细胞靶向的新策略 (表 2)。靶向 EpCAM 的 CAR-T 细胞能够抑制荷瘤小鼠中肠癌的进展, 而没有明显的毒副作用^[98-99]。靶向 CD133 的 CAR-T 细胞对 CD133⁺结直肠干细胞表现出较强的抵抗性, 其安全和初步疗效已在 I 期试验中得到验证^[100]。CNA3103 是一种靶向 Lgr5 抗原的 CAR-T 细胞, 其在转移性结直肠癌中的作用得到了 1/2a 临床试验的验证^[101]。Anti-DCLK1 CAR-T 细胞以结直肠癌干细胞的标志物 DCLK1 为靶点, 能有效识别结直肠癌干细胞并释放 IFN- γ , 发挥细胞毒性功能。体内实验显示, 抗 DCLK1 CAR-T 细胞治疗 LOVO 异种移植小鼠的肿瘤生长抑制率超过 42%, 且无明显毒性^[102]。

Table 2 Targeted therapeutics for CSCs and their immune niche
表2 肿瘤干细胞及其免疫微环境的靶向治疗策略

类型	名称	靶点	功能	参考文献
抗体	BNC101	Lgr5	抑制肿瘤, 在肠癌PDX模型中延长荷瘤小鼠的生存时间	[74-75]
抗体	anti-RSPO3	RSPO3	Lgr5配体RSPO3的抗体能够诱导PTPRK-RSPO3融合型肠癌的分化和干性丢失, 并进一步抑制肿瘤生长	[76]
抗体	HZ8CV2	Progastrin	阻断Wnt/ β -catenin信号通路, 抑制肿瘤干细胞和肿瘤的生长、侵袭和转移	[77]
抗体耦联药物	hu8E11v2-vc-MMAE	Lgr5	对细胞系、PDX和小鼠模型的肠癌均有抑制作用, 延长AKV小鼠的生存时间, 肠道副作用小, 安全性好	[78]
抗体耦联药物	hu8E11v2-NMS818	Lgr5	对细胞系和PDX有治疗作用, 有一定的肠道副作用	[78]
抗体耦联药物	MI130110	CD13	CD13抗体TEA1/8和微管抑制剂PM050489组合而成, 在体内外实验中, 能够特异地诱导CD13 ⁺ 肿瘤干细胞发生细胞周期停滞, 并诱发细胞死亡	[79]
双特异性抗体	MT110	EpCAM $\times$ CD3	促进肿瘤干细胞与T细胞的结合, 有效地清除结直肠肿瘤干细胞	[80]
多肽	LS-7	CD133	迁移和划痕实验表明, LS-7显著抑制乳腺癌和肠癌的干性和迁移能力; 实时定量PCR和蛋白质印迹证明, LS-7作用于c-Met和Stat3	[81]
多肽耦联药物	CD133 - Pyro	CD133	促进ROS生成和肠癌干细胞的自噬性死亡, 抑制肿瘤干细胞的干性	[82]
CAR-T	Anti-EpCAM CAR-T	EpCAM	抑制荷瘤小鼠中肠癌的进展, 而没有明显的毒副作用	[98-99]
CAR-T	Anti-CD133 CAR-T	CD133	对CD133 ⁺ 结直肠干细胞表现出较强的抵抗性, 其安全性和初步疗效较好	[100]
CAR-T	CNA3103	Lgr5	靶向Lgr5, 其在转移性结直肠癌中的作用得到了1/2a临床试验的验证	[101]
CAR-T	Anti-DCLK1 CAR-T	DCLK1	有效识别结直肠癌干细胞并释放IFN- γ , 肿瘤生长抑制率超过42%	[102]

肿瘤中丰度最高的免疫细胞类型是 TAMs, 肿瘤干细胞和 TAMs 存在相互作用: 肿瘤干细胞能够活化 TAMs 分泌 IL-6, 而 IL-6 则进一步通过 STAT3 通路促进肿瘤干细胞的功能, 形成正反馈调控环路^[103]。在胰腺癌中, 靶向巨噬细胞标志物 CSF1R 能够抑制肿瘤干细胞的活性^[104]。除了 TAMs, Treg 等其他免疫细胞也能够促进肿瘤干细胞的干性

和治疗抵抗, 可以作为肿瘤干细胞免疫微环境的潜在靶点^[105]。相反地, 肿瘤干细胞的靶向也可以改变免疫微环境, 改善肿瘤免疫疗法的治疗效果, 例如, 在结直肠癌动物实验中, Lgr5 抗体 BNC101 可以提高抗 PD-1 治疗的疗效^[106]。近年来, 肿瘤细胞自身的免疫功能受到了越来越多的关注, 靶向传统免疫分子能够直接影响肿瘤干细胞, 最新研究利用

抗IL-4中和抗体或IL-4受体 α 拮抗剂抑制IL-4信号转导通路,可靶向肿瘤干细胞,减少结肠癌干细胞存活^[107]。干细胞衍生的细胞外囊泡(EV)及其免疫调控是近年来研究的热点。最新研究发现,负载有来自肿瘤干细胞小球外泌体(CSC-EXOs)的树突状细胞可以作为一种潜在的免疫治疗策略^[108]。进一步研究表明,从小鼠和人类肠道器官中分离的EV可调节多种免疫细胞的炎症反应,但EV介导的免疫调节会被阿片类药物破坏^[109-110]。

除了肿瘤干细胞自身的干性外,某些自身具有干细胞特性的微环境细胞在癌症治疗中也发挥关键作用,可以作为肿瘤和肿瘤干细胞的干预靶点^[111]。其中,CD8⁺T细胞的分化状态是决定其功能的核心因素,具有干细胞特征的肿瘤内CD8⁺T细胞具有更强的抑瘤作用,肿瘤内具有干细胞特征的PD-1⁺tcfl⁺CD8⁺T细胞在免疫治疗反应中介导了细胞扩增和肿瘤控制^[112]。最近研究表明,SWI/SNF染色质重塑复合物cBAF能够与c-myc互作,共同维持T细胞的自我更新和免疫应答能力。更重要的是,cBAF的抑制剂在体外短暂处理T细胞即可促进T细胞的存活和抗肿瘤能力^[113]。吡咯胺-2,3-双加氧酶1(IDO1)被认为是肿瘤治疗中重要的免疫治疗靶点^[114]。IDO1⁺ Paneth细胞是肠道和肠癌干细胞重要的微环境细胞类型,在肠隐窝和肿瘤干细胞中发挥关键作用,IDO1依靠STAT1抑制肿瘤中免疫细胞的激活,促进结直肠癌的免疫逃逸^[115]。

越来越多的研究表明,肿瘤干细胞及其免疫微环境的相互作用受到多种体内环境因素的影响,包括性别、年龄、代谢水平和神经因素的影响,相关的因素对肿瘤干细胞免疫微环境的调控作用及干预策略受到了越来越多的关注^[116]。对于大多数非生殖型肿瘤,男性发病率和死亡率较高,预后差。例如,当缺乏抑癌基因*RBI*和*P53*时,雄性小鼠中星形胶质细胞更容易转化成为肿瘤细胞,且伴随着更强的肿瘤干细胞特征^[117],同时,雄性胶质母细胞瘤伴随着更高比例的免疫抑制性细胞,说明性别是影响肿瘤干细胞及其免疫微环境的重要因素^[118]。在衰老过程中,干细胞处于更加静息的状态,抗原提呈能力下降,加之免疫细胞功能下降,因此肿瘤干细胞容易逃逸免疫监视^[119-120]。高脂饮食伴随着慢性低级别炎症,不仅能够重塑抗肿瘤免疫效应,还能够重塑肿瘤干细胞的微环境^[121]。一些正常干细胞在炎症刺激时,会改变染色质可及性

并获得记忆状态,期间激活的癌基因可能与高脂饮食诱发肿瘤有关^[122-123]。同时,高脂饮食还可能通过改变肠道菌群的组成,进而改变干细胞的癌变状态^[124]。Zhu等^[125]发现,肠癌干细胞的自我更新受到微环境神经因素的精准控制,肠癌发生时,肠癌特异性的菌群代谢物异戊酸(IVA)作用于嗜铬细胞,分泌更多的肠道神经递质5-羟色胺(5-HT),而5-HT则能够直接作用于肠癌干细胞,通过Wnt信号通路最终促进肠癌干细胞的自我更新和肝转移,提出了肿瘤干细胞及其免疫微环境的靶向新策略。随着对肿瘤干细胞微环境的全面认识,越来越多的靶向策略将用于肿瘤干细胞及其微环境的干预中。

肿瘤干细胞及其微环境是动态变化的,其中最经典的场景之一是药物治疗的影响。抗肿瘤药物,包括小分子靶向药物、常规化疗药物、生物治疗药物等,对肿瘤干细胞及其微环境具有显著的重塑作用。Tape团队^[126-127]构建了肿瘤类器官培养和“肿瘤-成纤维”类器官共培养体系,结合11种治疗方式(包括多种化疗和信号通路的抑制剂等),获得了超过2500种肿瘤类器官的单细胞测序数据,发现肿瘤干细胞状态在肿瘤治疗过程中有巨大的变化,并发现伴随着胞内信号和翻译后修饰的改变,肿瘤相关成纤维细胞(CAF)能够将肿瘤干细胞由增殖型干细胞(proCSCs)转变为复活型干细胞(revCSCs),并因此获得耐药特征,这种细胞类型转变在肿瘤发生过程中已然存在。Su等^[128]也发现,乳腺癌化疗过程中活化的C5a-GPR77-NF κ B通路促进了CD10⁺GPR77⁺成纤维细胞的出现,而CD10⁺GPR77⁺成纤维细胞则分泌免疫因子IL-6和IL-8,促进肿瘤干细胞的自我更新和化疗抵抗,是化疗耐受型乳腺癌逃逸治疗的关键。除了化疗,免疫治疗也会导致肿瘤干细胞及其微环境的改变。肿瘤干细胞在肿瘤免疫治疗后增多,原因之一是肿瘤干细胞对肿瘤免疫的抵抗作用,同时,IFN- γ 作为肿瘤免疫治疗中活化型T细胞最重要的免疫因子之一,能够通过BCAT-1途径直接将肿瘤非干细胞去分化为肿瘤干细胞,进而驱动肿瘤耐药和转移,因此BCAT-1抑制剂和免疫治疗联用能够有限阻断免疫治疗诱发的肿瘤干细胞,提高治疗效果^[129]。另一项类似的研究也表明,肿瘤治疗中产生的一型干扰素(IFNs-I)是免疫逃逸和耐药的关键,IFNs-I能够诱发KDM1B并驱动染色质重塑,进而驱动肿瘤肿瘤干细胞的产生和功能维持^[130]。

8 展 望

肿瘤干细胞及其免疫微环境的靶向干预仍存在许多困难, 包括技术层面的困难及生物学复杂性造成的困难。技术上, 用于肿瘤干细胞研究的小球形成和类器官形成体系中缺乏免疫细胞, 共培养体系不够完善, 造成肿瘤干细胞的培养体系与体内环境并不完全一致, 因此开发能够真实准确地模拟肿瘤干细胞微环境的研究体系至关重要。近年来, 人们一直关注肿瘤类器官(或肿瘤干性小球)与免疫细胞的共培养体系, 用于评估肿瘤干细胞和免疫细胞之间的关系^[131-132]。有研究利用气液界面(air-liquid interface)类器官模型在肿瘤微环境中进行免疫-肿瘤相互作用研究, 发现体外PD-1/PD-L1免疫检查点阻断可增加肿瘤类器官中抗原特异性TILs的含量^[133]。进一步研究发现, 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)与PD-L1阻断抗体和淋巴因子激活杀伤细胞(LAK)共培养可降低肿瘤细胞的增殖和活力, 并诱导MSS⁺结直肠癌细胞中PD-L1的表达^[134]。另一项研究发现, 外周血淋巴细胞和自体肿瘤类器官共培养可以增加肿瘤反应性T细胞, 该类细胞的激活能够清除肿瘤类器官^[135]。TRAF2和NCK结合激酶(TRAF2 and NCK interacting kinase, TNIK)是TCF4和 β -catenin转录复合物的重要调控成分, 是结直肠癌干细胞肿瘤启动所必需的, 因此TNIK抑制剂NCB-0846可抑制Apc^{min/+}小鼠Wnt驱动的肠道肿瘤发生^[136]。

肿瘤干细胞及其微环境存在高度的异质性和可塑性。人们普遍认为, 靶向肿瘤细胞时, 肿瘤干细胞能够去分化形成新的肿瘤细胞, 造成治疗抵抗和复发, 而靶向肿瘤干细胞则能够从根本上清除肿瘤^[137]。然而, 最近研究发现, 靶向Lgr5⁺肿瘤干细胞后, 普通肿瘤细胞能够去分化形成新的肿瘤干细胞, 驱动治疗抵抗和复发^[138-139]。因此, “种子和土壤”的视角, 破坏肿瘤干细胞赖以生存的微环境(土壤), 可能比靶向肿瘤细胞更加有效。实际上, 肿瘤干细胞的微环境也存在高度的异质性和可塑性, 本文详细介绍了肿瘤干细胞微环境的多种免疫细胞类型, 而这些细胞也处于动态变化过程中。肿瘤发生时, 巨噬细胞会由抑制肿瘤的M1类型转化成为促进肿瘤的M2类型^[140], 成纤维细胞也会转化成为肿瘤相关的成纤维细胞^[141]; 肿瘤化疗过程中, 肿瘤干细胞微环境中的成纤维细胞发生命运转

变, 成为CD10⁺GPR77⁺成纤维细胞亚群, 参与乳腺癌干细胞的维持和化疗耐受^[128]。

肿瘤干细胞领域的研究面临诸多瓶颈, 譬如, 肿瘤干细胞培养基价格昂贵, 缺乏大批量培养的条件, 不适合大规模推广; 肿瘤干性小球/类器官-免疫细胞共培养模型不成熟, 不能达到与体内微环境相同的培养效果; 肿瘤干细胞及其免疫微环境具有高度的异质性和可塑性; 类器官筛药的临床效果尚难以准确评估。期待未来的研究能够解决这些问题。希望肿瘤工作者尽早发现肿瘤干细胞的特征性标志物, 揭示肿瘤干细胞的起源及其维持干性的机制, 解析肿瘤干细胞的微环境, 发现靶向肿瘤干细胞及其微环境的干预策略, 扼杀肿瘤干细胞, 治愈肿瘤患者, 为更多肿瘤患者带来新希望。

参 考 文 献

- [1] Fan M, Shi Y, Zhao J, *et al.* Cancer stem cell fate determination: mito-nuclear communication. *Cell Commun Signal*, 2023, **21**(1): 159
- [2] 师玉露, 杨胜富, 唐磊, 等. 肿瘤干细胞与肿瘤相关巨噬细胞的相互作用. *生物化学与生物物理进展*, 2022, **49**(6): 1075-1084
Shi Y L, Yang S F, Tang L, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2022, **49**(6): 1075-1084
- [3] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, *et al.* A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 1994, **367**(6464): 645-648
- [4] Bonnet D, Dick J E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*, 1997, **3**(10): 730-737
- [5] Reya T, Morrison S J, Clarke M F, *et al.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 2001, **414**: 105-111
- [6] Al-Hajj M, Wicha M S, Benito-Hernandez A, *et al.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(7): 3983-3988
- [7] Basakran N S. CD44 as a potential diagnostic tumor marker. *Saudi Med J*, 2015, **36**(3): 273-279
- [8] Chen C, Zhao S, Karnad A, *et al.* The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *J Hematol Oncol*, 2018, **11**(1): 64
- [9] Dalerba P, Dylla S J, Park I K, *et al.* Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(24): 10158-10163
- [10] Haraguchi N, Ishii H, Mimori K, *et al.* CD13 is a therapeutic target in human liver cancer stem cells. *J Clin Invest*, 2010, **120**(9): 3326-3339
- [11] Zheng Y B, Gong J H, Liu X J, *et al.* A CD13-targeting peptide integrated protein inhibits human liver cancer growth by killing cancer stem cells and suppressing angiogenesis. *Mol Carcinog*, 2017, **56**(5): 1395-1404
- [12] Nio K, Yamashita T, Kaneko S. The evolving concept of liver

- cancer stem cells. *Mol Cancer*, 2017, **16**(1): 4
- [13] Akbari M, Shomali N, Faraji A, *et al.* CD133: an emerging prognostic factor and therapeutic target in colorectal cancer. *Cell Biol Int*, 2020, **44**(2): 368-380
- [14] Liu M, Di J, Liu Y, *et al.* Comparison of EpCAM(high)CD44⁺ cancer stem cells with EpCAM(high)CD44(-) tumor cells in colon cancer by single-cell sequencing. *Cancer Biol Ther*, 2018, **19**(10): 939-947
- [15] Trzpis M, McLaughlin PM J, de Leij L M F H, *et al.* Epithelial cell adhesion molecule: more than a carcinoma marker and adhesion molecule. *Am J Pathol*, 2007, **171**(2): 386-395
- [16] Mani S K K, Zhang H, Diab A, *et al.* EpCAM-regulated intramembrane proteolysis induces a cancer stem cell-like gene signature in hepatitis B virus-infected hepatocytes. *J Hepatol*, 2016, **65**(5): 888-898
- [17] Barker N, van Es J H, Kuipers J, *et al.* Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene *Lgr5*. *Nature*, 2007, **449**(7165): 1003-1007
- [18] Leung C, Tan S H, Barker N. Recent advances in *Lgr5*(+) stem cell research. *Trends Cell Biol*, 2018, **28**(5): 380-391
- [19] Schepers A G, Snippert H J, Stange D E, *et al.* Lineage tracing reveals *Lgr5*⁺ stem cell activity in mouse intestinal adenomas. *Science*, 2012, **337**(6095): 730-735
- [20] Wang Y, He L, Du Y, *et al.* The long noncoding RNA *lncTCF7* promotes self-renewal of human liver cancer stem cells through activation of Wnt signaling. *Cell Stem Cell*, 2015, **16**(4): 413-425
- [21] Hirsch D, Barker N, McNeil N, *et al.* *LGR5* positivity defines stem-like cells in colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 2014, **35**(4): 849-858
- [22] Barker N, Ridgway R A, van Es J H, *et al.* Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer. *Nature*, 2009, **457**(7229): 608-611
- [23] Beumer J, Clevers H. Cell fate specification and differentiation in the adult mammalian intestine. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, **22**(1): 39-53
- [24] Yang Z, Li C, Fan Z, *et al.* Single-cell sequencing reveals variants in *ARID1A*, *GPRC5A* and *MLL2* driving self-renewal of human bladder cancer stem cells. *Eur Urol*, 2017, **71**(1): 8-12
- [25] Dawson M A, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell*, 2012, **150**(1): 12-27
- [26] Hwang J Y, Aromolaran K A, Zukin R S. The emerging field of epigenetics in neurodegeneration and neuroprotection. *Nat Rev Neurosci*, 2017, **18**(6): 347-361
- [27] Parry A, Rulands S, Reik W. Active turnover of DNA methylation during cell fate decisions. *Nat Rev Genet*, 2021, **22**(1): 59-66
- [28] Esteller M. Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylome. *Hum Mol Genet*, 2007, **16**(R1): R50-R59
- [29] Lu R, Wang P, Parton T, *et al.* Epigenetic perturbations by Arg882-mutated *DNMT3A* potentiate aberrant stem cell gene-expression program and acute leukemia development. *Cancer Cell*, 2016, **30**(1): 92-107
- [30] Zhu P, Wang Y, Huang G, *et al.* *Lnc-β-Catm* elicits *EZH2*-dependent β -catenin stabilization and sustains liver CSC self-renewal. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, **23**(7): 631-639
- [31] Zhu P, Wang Y, Wu J, *et al.* *LncBRM* initiates *YAP1* signalling activation to drive self-renewal of liver cancer stem cells. *Nat Commun*, 2016, **7**: 13608
- [32] Wu J, Zhu P, Lu T, *et al.* The long non-coding RNA *LncHDAC2* drives the self-renewal of liver cancer stem cells *via* activation of Hedgehog signaling. *J Hepatol*, 2019, **70**(5): 918-929
- [33] Wang Y, Zhu P, Luo J, *et al.* *LncRNA HAND2-AS1* promotes liver cancer stem cell self-renewal *via* BMP signaling. *EMBO J*, 2019, **38**(17): e101110
- [34] Zhu P, Wu J, Wang Y, *et al.* *LncGata6* maintains stemness of intestinal stem cells and promotes intestinal tumorigenesis. *Nat Cell Biol*, 2018, **20**(10): 1134-1144
- [35] Chen Z, Lu T, Huang L, *et al.* Circular RNA *ci-MAF* drives self-renewal and metastasis of liver tumor-initiating cells *via* transcription factor *MAFF*. *J Clin Invest*, 2021, **131**(19): e148020
- [36] Gu Y, Wang Y, He L, *et al.* Circular RNA *circIPO11* drives self-renewal of liver cancer initiating cells *via* Hedgehog signaling. *Mol Cancer*, 2021, **20**(1): 132
- [37] Chen Z, Wu J, Liu B, *et al.* Identification of *cis-HOX-HOXC10* axis as a therapeutic target for colorectal tumor-initiating cells without APC mutations. *Cell Rep*, 2021, **36**(4): 109431
- [38] Kyriazi A A, Papiris E, Kitsos Kalyvianakis K, *et al.* Dual effects of non-coding RNAs (ncRNAs) in cancer stem cell biology. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(18): 6658
- [39] Zhu P, Liu B, Fan Z. Noncoding RNAs in tumorigenesis and tumor therapy. *Fundam Res*, 2023, **3**(5): 692-706
- [40] He Y, Jiang X, Duan L, *et al.* *LncRNA PKMYT1AR* promotes cancer stem cell maintenance in non-small cell lung cancer *via* activating Wnt signaling pathway. *Mol Cancer*, 2021, **20**(1): 156
- [41] Li K, Peng Z Y, Wang R, *et al.* Enhancement of TKI sensitivity in lung adenocarcinoma through m6A-dependent translational repression of Wnt signaling by *circ-FBXW7*. *Mol Cancer*, 2023, **22**(1): 103
- [42] Chen Q Y, Xu K X, Huang X B, *et al.* *Circ-0075305* hinders gastric cancer stem cells by indirectly disrupting *TCF₄-β-catenin* complex and downregulation of *SOX9*. *Commun Biol*, 2024, **7**(1): 545
- [43] Hui Y, Yang Y, Li D, *et al.* *LncRNA FEZF1-AS1* modulates cancer stem cell properties of human gastric cancer through *miR-363-3p/HMGA2*. *Cell Transplant*, 2020, **29**: 963689720925059
- [44] Qin Y, Hou Y, Liu S, *et al.* A novel long non-coding RNA *lnc030* maintains breast cancer stem cell stemness by stabilizing *sqle* mRNA and increasing cholesterol synthesis. *Adv Sci*, 2021, **8**(2): 2002232
- [45] Xia W, Chen W, Ni C, *et al.* Chemotherapy-induced exosomal *circBACH1* promotes breast cancer resistance and stemness *via* *miR-217/G3BP2* signaling pathway. *Breast Cancer Res*, 2023, **25**(1): 85
- [46] 沈文妹, 韩秋菊, 张建. 免疫微环境对肿瘤干细胞影响研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2019, **46**(7): 654-662
- Shen W S, Han Q J, Zhang J. *Prog Biochem Biophys*, 2019, **46**(7): 654-662
- [47] Raskov H, Orhan A, Christensen J P, *et al.* Cytotoxic CD8⁺ T cells

- in cancer and cancer immunotherapy. *Br J Cancer*, 2021, **124**(2): 359-367
- [48] Volonté A, Di Tomaso T, Spinelli M, *et al.* Cancer-initiating cells from colorectal cancer patients escape from T cell-mediated immunosurveillance *in vitro* through membrane-bound IL-4. *J Immunol*, 2014, **192**(1): 523-532
- [49] Wu Y, Chen M, Wu P, *et al.* Increased PD-L1 expression in breast and colon cancer stem cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2017, **44**(5): 602-604
- [50] Hsu J M, Xia W, Hsu Y H, *et al.* STT3-dependent PD-L1 accumulation on cancer stem cells promotes immune evasion. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1908
- [51] Komura N, Mabuchi S, Shimura K, *et al.* The role of myeloid-derived suppressor cells in increasing cancer stem-like cells and promoting PD-L1 expression in epithelial ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, **69**(12): 2477-2499
- [52] Miao Y, Yang H, Levorse J, *et al.* Adaptive immune resistance emerges from tumor-initiating stem cells. *Cell*, 2019, **177**(5): 1172-1186.e14
- [53] Kryczek I, Lin Y, Nagarsheth N, *et al.* IL-22(+)CD4⁺ T cells promote colorectal cancer stemness *via* STAT3 transcription factor activation and induction of the methyltransferase DOT1L. *Immunity*, 2014, **40**(5): 772-784
- [54] You Y, Li Y, Li M, *et al.* Ovarian cancer stem cells promote tumour immune privilege and invasion *via* CCL5 and regulatory T cells. *Clin Exp Immunol*, 2018, **191**(1): 60-73
- [55] Yang S, Wang B, Guan C, *et al.* Foxp3+IL-17+ T cells promote development of cancer-initiating cells in colorectal cancer. *J Leukoc Biol*, 2011, **89**(1): 85-91
- [56] Fan Q M, Jing Y Y, Yu G F, *et al.* Tumor-associated macrophages promote cancer stem cell-like properties *via* transforming growth factor-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2014, **352**(2): 160-168
- [57] Wan S, Zhao E, Kryczek I, *et al.* Tumor-associated macrophages produce interleukin 6 and signal *via* STAT3 to promote expansion of human hepatocellular carcinoma stem cells. *Gastroenterology*, 2014, **147**(6): 1393-1404
- [58] Lu H, Clauser K R, Tam W L, *et al.* A breast cancer stem cell niche supported by juxtacrine signalling from monocytes and macrophages. *Nat Cell Biol*, 2014, **16**(11): 1105-1117
- [59] Shi Y, Ping Y F, Zhou W, *et al.* Tumour-associated macrophages secrete pleiotrophin to promote PTPRZ1 signalling in glioblastoma stem cells for tumour growth. *Nat Commun*, 2017, **8**: 15080
- [60] Zhang B, Ye H, Ren X, *et al.* Macrophage-expressed CD51 promotes cancer stem cell properties *via* the TGF- β 1/smad2/3 axis in pancreatic cancer. *Cancer Lett*, 2019, **459**: 204-215
- [61] Tao W, Chu C, Zhou W, *et al.* Dual Role of WISP1 in maintaining glioma stem cells and tumor-supportive macrophages in glioblastoma. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 3015
- [62] Liang X, Zhang H, Wang Z, *et al.* JMJD8 is an M2 macrophage biomarker, and it associates with DNA damage repair to facilitate stemness maintenance, chemoresistance, and immunosuppression in pan-cancer. *Front Immunol*, 2022, **13**: 875786
- [63] Hsu Y L, Chen Y J, Chang W A, *et al.* Interaction between tumor-associated dendritic cells and colon cancer cells contributes to tumor progression *via* CXCL1. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(8): 2427
- [64] Wang D, Sun H, Wei J, *et al.* CXCL1 is critical for premetastatic niche formation and metastasis in colorectal cancer. *Cancer Res*, 2017, **77**(13): 3655-3665
- [65] Hsu Y L, Hung J Y, Tsai Y M, *et al.* 6-shogaol, an active constituent of dietary ginger, impairs cancer development and lung metastasis by inhibiting the secretion of CC-chemokine ligand 2 (CCL2) in tumor-associated dendritic cells. *J Agric Food Chem*, 2015, **63**(6): 1730-1738
- [66] Zhong M, Zhong C, Cui W, *et al.* Induction of tolerogenic dendritic cells by activated TGF- β /Akt/Smad2 signaling in RIG-I-deficient stemness-high human liver cancer cells. *BMC Cancer*, 2019, **19**(1): 439
- [67] Grange C, Tapparo M, Tritta S, *et al.* Role of HLA-G and extracellular vesicles in renal cancer stem cell-induced inhibition of dendritic cell differentiation. *BMC Cancer*, 2015, **15**: 1009
- [68] Peng D, Tanikawa T, Li W, *et al.* Myeloid-derived suppressor cells endow stem-like qualities to breast cancer cells through IL6/STAT3 and NO/NOTCH cross-talk signaling. *Cancer Res*, 2016, **76**(11): 3156-3165
- [69] Cui T X, Kryczek I, Zhao L, *et al.* Myeloid-derived suppressor cells enhance stemness of cancer cells by inducing microRNA101 and suppressing the corepressor CtBP2. *Immunity*, 2013, **39**(3): 611-621
- [70] Panni R Z, Sanford D E, Belt B A, *et al.* Tumor-induced STAT3 activation in monocytic myeloid-derived suppressor cells enhances stemness and mesenchymal properties in human pancreatic cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, **63**(5): 513-528
- [71] Hwang W L, Lan H Y, Cheng W C, *et al.* Tumor stem-like cell-derived exosomal RNAs prime neutrophils for facilitating tumorigenesis of colon cancer. *J Hematol Oncol*, 2019, **12**(1): 10
- [72] Zhao Q, Zong H, Zhu P, *et al.* Crosstalk between colorectal CSCs and immune cells in tumorigenesis, and strategies for targeting colorectal CSCs. *Exp Hematol Oncol*, 2024, **13**(1): 6
- [73] Yang L, Shi P, Zhao G, *et al.* Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, **5**(1): 8
- [74] Chu P, Smith K, Shojaei F, *et al.* Preclinical evaluation and biomarker identification for the anti-LGR5 mAb BNC101 in K-Ras mutant CRC and other solid tumor indications. *Cancer Res*, 2015, **75**(15_Supplement): 2639
- [75] Inglis D, Licari J, Georgiou K, *et al.* Characterization of BNC101 a human specific monoclonal antibody targeting the GPCR LGR5: first-in-human evidence of target engagement. *Cancer Res*, 2018, **78**(13_Supplement): 3910
- [76] Storm E E, Durinck S, de Sousa e Melo F, *et al.* Targeting PTPRK-RSPO3 colon tumours promotes differentiation and loss of stem-cell function. *Nature*, 2016, **529**(7584): 97-100
- [77] Prieur A, Cappellini M, Habif G, *et al.* Targeting the Wnt pathway and cancer stem cells with anti-progastrin humanized antibodies as

- a potential treatment for K-RAS-mutated colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 2017, **23**(17): 5267-5280
- [78] Junttila MR, Mao W, Wang X, *et al.* Targeting LGR5+ cells with an antibody-drug conjugate for the treatment of colon cancer. *Sci Transl Med*, 2015, **7**(314): 314ra186
- [79] Domínguez J M, Pérez-Chacón G, Guillén M J, *et al.* CD13 as a new tumor target for antibody-drug conjugates: validation with the conjugate MI130110. *J Hematol Oncol*, 2020, **13**(1): 32
- [80] Herrmann I, Baeuerle P A, Friedrich M, *et al.* Highly efficient elimination of colorectal tumor-initiating cells by an EpCAM/CD3-bispecific antibody engaging human T cells. *PLoS One*, 2010, **5**(10): e13474
- [81] Sun J, Zhang C, Liu G, *et al.* A novel mouse CD133 binding-peptide screened by phage display inhibits cancer cell motility *in vitro*. *Clin Exp Metastasis*, 2012, **29**(3): 185-196
- [82] Yan S, Tang D, Hong Z, *et al.* CD133 peptide-conjugated pyropheophorbide-a as a novel photosensitizer for targeted photodynamic therapy in colorectal cancer stem cells. *Biomater Sci*, 2021, **9**(6): 2020-2031
- [83] Brocks D, Schmidt C R, Daskalakis M, *et al.* DNMT and HDAC inhibitors induce cryptic transcription start sites encoded in long terminal repeats. *Nat Genet*, 2017, **49**(7): 1052-1060
- [84] Hogg S J, Beavis P A, Dawson M A, *et al.* Targeting the epigenetic regulation of antitumor immunity. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, **19**(11): 776-800
- [85] Kaminskas E, Farrell A T, Wang Y C, *et al.* FDA drug approval summary: azacitidine (5-azacytidine, Vidaza) for injectable suspension. *Oncologist*, 2005, **10**(3): 176-182
- [86] Gore S D, Jones C, Kirkpatrick P. Decitabine. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, **5**: 891-892
- [87] Muvarak N E, Chowdhury K, Xia L, *et al.* Enhancing the cytotoxic effects of PARP inhibitors with DNA demethylating agents - A potential therapy for cancer. *Cancer Cell*, 2016, **30**(4): 637-650
- [88] Thummuri D, Kumar S, Surapaneni S K, *et al.* Epigenetic regulation of protein tyrosine phosphatase PTPN12 in triple-negative breast cancer. *Life Sci*, 2015, **130**: 73-80
- [89] Belinsky S A, Klinge D M, Stidley C A, *et al.* Inhibition of DNA methylation and histone deacetylation prevents murine lung cancer. *Cancer Res*, 2003, **63**(21): 7089-7093
- [90] Segovia C, José-Enériz E, Munera-Maravilla E, *et al.* Inhibition of a G9a/DNMT network triggers immune-mediated bladder cancer regression. *Nat Med*, 2019, **25**(7): 1073-1081
- [91] Odunsi K, Matsuzaki J, James S R, *et al.* Epigenetic potentiation of NY-ESO-1 vaccine therapy in human ovarian cancer. *Cancer Immunol Res*, 2014, **2**(1): 37-49
- [92] Ali I, Conrad R J, Verdin E, *et al.* Lysine acetylation goes global: from epigenetics to metabolism and therapeutics. *Chem Rev*, 2018, **118**(3): 1216-1252
- [93] Pan P, Oshima K, Huang Y W, *et al.* Loss of FFAR2 promotes colon cancer by epigenetic dysregulation of inflammation suppressors. *Int J Cancer*, 2018, **143**(4): 886-896
- [94] Kikuchi J, Wada T, Shimizu R, *et al.* Histone deacetylases are critical targets of bortezomib-induced cytotoxicity in multiple myeloma. *Blood*, 2010, **116**(3): 406-417
- [95] Kanno K, Kanno S, Nitta H, *et al.* Overexpression of histone deacetylase 6 contributes to accelerated migration and invasion activity of hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Rep*, 2012, **28**(3): 867-873
- [96] Luo J, Su F, Chen D, *et al.* Deacetylation of p53 modulates its effect on cell growth and apoptosis. *Nature*, 2000, **408**(6810): 377-381
- [97] Ju F, Atyah M M, Horstmann N, *et al.* Characteristics of the cancer stem cell niche and therapeutic strategies. *Stem Cell Res Ther*, 2022, **13**(1): 233
- [98] Ang W X, Li Z, Chi Z, *et al.* Intraperitoneal immunotherapy with T cells stably and transiently expressing anti-EpCAM CAR in xenograft models of peritoneal carcinomatosis. *Oncotarget*, 2017, **8**(8): 13545-13559
- [99] Zhang B L, Li D, Gong Y L, *et al.* Preclinical evaluation of chimeric antigen receptor-modified T cells specific to epithelial cell adhesion molecule for treating colorectal cancer. *Hum Gene Ther*, 2019, **30**(4): 402-412
- [100] Wang Y, Chen M, Wu Z, *et al.* CD133-directed CAR T cells for advanced metastasis malignancies: a phase I trial. *Oncoimmunology*, 2018, **7**(7): e1440169
- [101] Desai J, Iglesias J L, Jablonskis L T, *et al.* A phase 1/2a, multicenter, open-label study of CNA3103 (LGR5-targeted, autologous CAR-T cells) in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol*, 2023, **41**(16_suppl): TPS3632
- [102] Sureban S M, Berahovich R, Zhou H, *et al.* DCLK1 monoclonal antibody-based CAR-T cells as a novel treatment strategy against human colorectal cancers. *Cancers*, 2019, **12**(1): 54
- [103] Jinushi M, Chiba S, Yoshiyama H, *et al.* Tumor-associated macrophages regulate tumorigenicity and anticancer drug responses of cancer stem/initiating cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(30): 12425-12430
- [104] Raghavan S, Mehta P, Xie Y, *et al.* Ovarian cancer stem cells and macrophages reciprocally interact through the WNT pathway to promote pro-tumoral and malignant phenotypes in 3D engineered microenvironments. *J Immunother Cancer*, 2019, **7**(1): 190
- [105] Xu Y, Dong X, Qi P, *et al.* Sox2 communicates with tregs through CCL1 to promote the stemness property of breast cancer cells. *Stem Cells*, 2017, **35**(12): 2351-2365
- [106] Dj Inglis D B, Tc Lavranos. Targeting the LGR5 complex with BNC101 to improve checkpoint inhibitor therapy in colorectal cancer. *Cancer Res*, 2017, **77**(13 Sup): 4695
- [107] Di Stefano A B, Iovino F, Lombardo Y, *et al.* Survivin is regulated by interleukin-4 in colon cancer stem cells. *J Cell Physiol*, 2010, **225**(2): 555-561
- [108] Naseri M, Zöller M, Hadjati J, *et al.* Dendritic cells loaded with exosomes derived from cancer stem cell-enriched spheroids as a potential immunotherapeutic option. *J Cell Mol Med*, 2021, **25**(7): 3312-3326
- [109] Saha S, Aranda E, Hayakawa Y, *et al.* Macrophage-derived extracellular vesicle-packaged WNTs rescue intestinal stem cells and enhance survival after radiation injury. *Nat Commun*, 2016, **7**: 13096

- [110] Zhang Y, Yan Y, Meng J, *et al.* Immune modulation mediated by extracellular vesicles of intestinal organoids is disrupted by opioids. *Mucosal Immunol*, 2021, **14**(4): 887-898
- [111] Siddiqui I, Schaeuble K, Chennupati V, *et al.* Intratumoral Tcf1(+) PD-1(+)CD8⁺ T cells with stem-like properties promote tumor control in response to vaccination and checkpoint blockade immunotherapy. *Immunity*, 2019, **50**(1): 195-211.e10
- [112] Held W, Siddiqui I, Schaeuble K, *et al.* Intratumoral CD8⁺ T cells with stem cell-like properties: implications for cancer immunotherapy. *Sci Transl Med*, 2019, **11**(515): eaay6863
- [113] Guo A, Huang H, Zhu Z, *et al.* cBAF complex components and MYC cooperate early in CD8⁺ T cell fate. *Nature*, 2022, **607**(7917): 135-141
- [114] Li F, Zhang R, Li S, *et al.* IDO1: an important immunotherapy target in cancer treatment. *Int Immunopharmacol*, 2017, **47**: 70-77
- [115] Pflügler S, Svinka J, Scharf I, *et al.* IDO1⁺ Paneth cells promote immune escape of colorectal cancer. *Commun Biol*, 2020, **3**(1): 252
- [116] Bayik D, Lathia J D. Cancer stem cell-immune cell crosstalk in tumour progression. *Nat Rev Cancer*, 2021, **21**(8): 526-536
- [117] Sun T, Warrington N M, Luo J, *et al.* Sexually dimorphic RB inactivation underlies mesenchymal glioblastoma prevalence in males. *J Clin Invest*, 2014, **124**(9): 4123-4133
- [118] Bayik D, Zhou Y, Park C, *et al.* Myeloid-derived suppressor cell subsets drive glioblastoma growth in a sex-specific manner. *Cancer Discov*, 2020, **10**(8): 1210-1225
- [119] Agudo J, Park E S, Rose S A, *et al.* Quiescent tissue stem cells evade immune surveillance. *Immunity*, 2018, **48**(2): 271-285.e5
- [120] Kalamakis G, Brüne D, Ravichandran S, *et al.* Quiescence modulates stem cell maintenance and regenerative capacity in the aging brain. *Cell*, 2019, **176**(6): 1407-1419.e14
- [121] Duan Y, Zeng L, Zheng C, *et al.* Inflammatory links between high fat diets and diseases. *Front Immunol*, 2018, **9**: 2649
- [122] Li X F, Chen C, Xiang D M, *et al.* Chronic inflammation-elicited liver progenitor cell conversion to liver cancer stem cell with clinical significance. *Hepatology*, 2017, **66**(6): 1934-1951
- [123] Naik S, Larsen S B, Gomez N C, *et al.* Inflammatory memory sensitizes skin epithelial stem cells to tissue damage. *Nature*, 2017, **550**(7677): 475-480
- [124] David L A, Maurice C F, Carmody R N, *et al.* Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 2014, **505**(7484): 559-563
- [125] Zhu P, Lu T, Chen Z, *et al.* 5-hydroxytryptamine produced by enteric serotonergic neurons initiates colorectal cancer stem cell self-renewal and tumorigenesis. *Neuron*, 2022, **110**(14): 2268-2282.e4
- [126] Qin X, Cardoso Rodriguez F, Sufi J, *et al.* An oncogenic phenoscape of colonic stem cell polarization. *Cell*, 2023, **186**(25): 5554-5568.e18
- [127] Ramos Zapatero M, Tong A, Opzoomer J W, *et al.* Trellis tree-based analysis reveals stromal regulation of patient-derived organoid drug responses. *Cell*, 2023, **186**(25): 5606-5619.e24
- [128] Su S, Chen J, Yao H, *et al.* CD10⁺GPR77(+) cancer-associated fibroblasts promote cancer formation and chemoresistance by sustaining cancer stemness. *Cell*, 2018, **172**(4): 841-856.e16
- [129] Beziaud L, Young C M, Alonso A M, *et al.* IFN γ -induced stem-like state of cancer cells as a driver of metastatic progression following immunotherapy. *Cell Stem Cell*, 2023, **30**(6): 818-831.e6
- [130] Musella M, Guarracino A, Manduca N, *et al.* Type I IFNs promote cancer cell stemness by triggering the epigenetic regulator KDM1B. *Nat Immunol*, 2022, **23**(9): 1379-1392
- [131] Noel G, Baetz N W, Staab J F, *et al.* A primary human macrophage-enteroid co-culture model to investigate mucosal gut physiology and host-pathogen interactions. *Sci Rep*, 2017, **7**: 45270
- [132] Cattaneo C M, Dijkstra K K, Fanchi L F, *et al.* Tumor organoid-T-cell coculture systems. *Nat Protoc*, 2020, **15**(1): 15-39
- [133] Neal J T, Li X, Zhu J, *et al.* Organoid modeling of the tumor immune microenvironment. *Cell*, 2018, **175**(7): 1972-1988.e16
- [134] Gutting T, Hauber V, Pahl J, *et al.* PPAR γ induces PD-L1 expression in MSS⁺ colorectal cancer cells. *Oncoimmunology*, 2021, **10**(1): 1906500
- [135] Dijkstra K K, Cattaneo C M, Weeber F, *et al.* Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of peripheral blood lymphocytes and tumor organoids. *Cell*, 2018, **174**(6): 1586-1598.e12
- [136] Masuda M, Uno Y, Ohbayashi N, *et al.* TNIK inhibition abrogates colorectal cancer stemness. *Nat Commun*, 2016, **7**: 12586
- [137] Kreso A, Dick J E. Evolution of the cancer stem cell model. *Cell Stem Cell*, 2014, **14**(3): 275-291
- [138] Shimokawa M, Ohta Y, Nishikori S, *et al.* Visualization and targeting of LGR5⁺ human colon cancer stem cells. *Nature*, 2017, **545**(7653): 187-192
- [139] de Sousa e Melo F, Kurtova A V, Harnoss J M, *et al.* A distinct role for Lgr5(+) stem cells in primary and metastatic colon cancer. *Nature*, 2017, **543**(7647): 676-680
- [140] Pan Y, Yu Y, Wang X, *et al.* Tumor-associated macrophages in tumor immunity. *Front Immunol*, 2020, **11**: 583084
- [141] Chen Y, McAndrews K M, Kalluri R. Clinical and therapeutic relevance of cancer-associated fibroblasts. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, **18**(12): 792-804

Cancer Stem Cells and Immune Microenvironment Regulation*

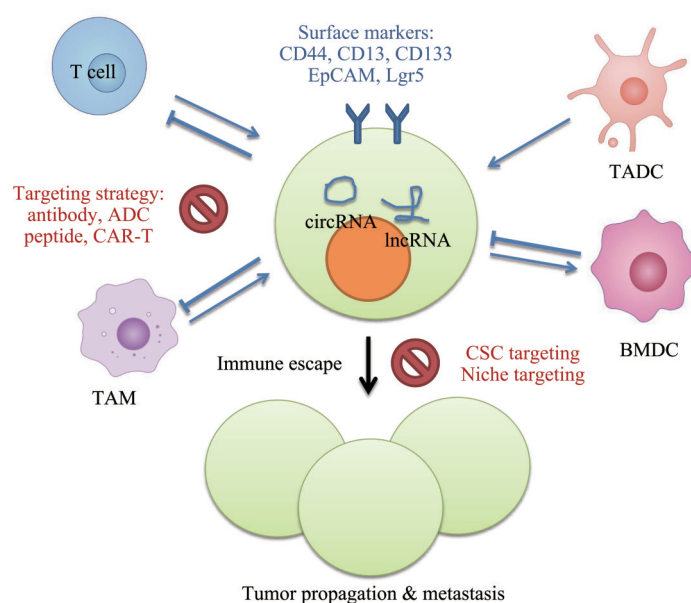
ZHU Ping-Ping^{1)**}, JIN Shui-Ling²⁾, ZHAO Qi²⁾, FAN Zu-Sen^{3)**}

¹⁾School of Life Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;

²⁾Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China;

³⁾Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Graphical abstract



Abstract Cancer stem cells (CSCs), a small subset of cells in the tumor bulk with the ability of self-renewal and differentiation, are the key to tumor occurrence, metastasis, drug resistance and relapse. CSCs are resided in a specific microenvironment, and their number maintenance, self-renewal and differentiation are precisely regulated by the microenvironment, and the immune microenvironment is one of the most critical microenvironments for CSCs. In recent years, tumor immunotherapy has achieved great success, but drug resistance and recurrence are frequently occurred after immunotherapy. Compared with non-CSC tumor cells, CSCs harbor stronger immune escape ability, and their roles in tumor immune escape are increasingly followed. In this review, we described the discovery history and lineage sources of CSCs, focused on immune cells in the CSC microenvironment, such as tumor-infiltrating lymphocytes, tumor-associated macrophages, and tumor-associated dendritic cells, and analyzed the mechanism of CSC-immune cell interaction. Intervention strategies targeting CSCs and their immune

* This work was supported by grants from Joint Funding of Henan Provincial Science and Technology R&D Plan (222301420016), National Key Research and Development Program of China (2020YFA0803501), and The National Natural Science Foundation of China (U23A20459).

** Corresponding author.

ZHU Ping-Ping. Tel: 86-371-67783235, E-mail: zhup@zzu.edu.cn

FAN Zu-Sen. Tel: 86-10-64888457, E-mail: fanz@moon.ibp.ac.cn

Received: June 7, 2024 Accepted: August 16, 2024

microenvironment are also described. With the development and application of advanced technologies such as CSC-immune cell co-culture, single-cell sequencing and lineage tracing, the immune escape of CSCs can be suppressed by targeting the interaction between CSCs and immune cells or reversing the immunosuppressive microenvironment, which is expected to provide potential solutions to the problems of drug resistance and relapse in tumor immunotherapy.

Key words cancer stem cells, self-renewal, immune microenvironment, tumor immunotherapy

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0246