

肿瘤干细胞微环境与靶向干预策略*

朱平平 范祖森**

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 肿瘤干细胞具有自我更新和可塑性的潜能, 能够维持肿瘤生长和异质性的能力。肿瘤干细胞是肿瘤产生、转移、耐药和复发的根源, 肿瘤干细胞学说逐渐被肿瘤研究者所接受, 因此, 对肿瘤干细胞的深入理解有重大的科学和临床意义。肿瘤干细胞的微环境是肿瘤微环境的组成部分, 包括细胞-细胞接触、分泌型因子等。肿瘤非干细胞和肿瘤干细胞本身都可以作为肿瘤干细胞的微环境。肿瘤干细胞的微环境可以维持肿瘤干细胞的可塑性, 保护肿瘤干细胞免受免疫系统攻击, 也可以促进其转移。肿瘤干细胞对其微环境的塑造、肿瘤干细胞的微环境对肿瘤干细胞自我更新的影响, 以及针对肿瘤干细胞微环境的靶向干预等问题, 已成为肿瘤干细胞研究的前沿问题。本文就肿瘤干细胞的发现、自我更新维持机制、肿瘤干细胞的微环境, 及其肿瘤干细胞及微环境的干预策略等研究进展进行了综述。

关键词 肿瘤干细胞, 自我更新调控, 肿瘤干细胞的微环境, 靶向干预

学科分类号 R73, Q2

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0242

1 肿瘤干细胞的发现及研究概述

1.1 肿瘤干细胞的发现

肿瘤已成为人类健康的一大杀手, 2012 年以来, 全球每年有超过 1 400 万的新生病例和近 1 000 万的死亡病例^[1]。中国是肿瘤发病大国, 仅 2015 年, 就有 429.2 万新生病例和 281.4 万死亡病例^[2]。随着肿瘤研究的深入, 越来越多的癌变机制和干预策略被发现, 然而, 肿瘤的发生问题依然没有真正解决。肿瘤干细胞模型很好地解释了肿瘤的起始、转移、耐药和复发, 也与越来越多的临床现象和实验数据相符合。肿瘤干细胞成为当今肿瘤研究的一大热点, 也为肿瘤治疗带来了新希望^[3-4]。

早在 19 世纪, 人们就发现了肿瘤和胚胎在组织学上具有高度的相似性, 因此认为肿瘤是发育过程中错位的胚胎干细胞激活引起的, 即胚胎残余假说, 但是, 由于当时实验手段的局限, 肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)仅仅停留在概念层面。20 世纪, 分子生物学获得巨大突破, 肿瘤学也更多地关注癌基因、抑癌基因等分子水平的变异。近年来, 人们越来越注重从细胞层面上审视肿瘤发生过程, 肿瘤干细胞研究才真正活跃起来。最近, 人们

建立了梯度移植成瘤实验、侧群细胞、小球形成、克隆形成等多种肿瘤干细胞功能模型, 并由此鉴定出多种肿瘤干细胞表面标志物, 极大推动了肿瘤干细胞的研究^[5-6]。

肿瘤干细胞, 又称为肿瘤起始细胞, 是肿瘤中的一少部分细胞, 这类细胞具有自我更新(self-renewal)和可塑性(plasticity)的潜能, 维持肿瘤生长和异质性的能力。现代意义上的肿瘤干细胞首先白血病中得到证实。CD34⁺/CD38⁻ 白血病细胞在小鼠体内能够形成肿瘤, 而 CD34⁻/CD38⁺ 细胞不能够形成肿瘤, 第一次证明 CD34⁺/CD38⁻ 可以作为白血病干细胞的表面标志物^[7]。后来越来越多的肿瘤干细胞表面标志物被鉴定出来(表 1)。不同肿瘤中的肿瘤干细胞, 可能有相同的标志物, 显示了不同肿瘤干细胞之间有某种程度的相似性。同时, 同一种肿瘤则会有不同的肿瘤干细胞表面标志物被发现, 显示了肿瘤干细胞的异质性(heterogeneity)。范

* 国家自然科学基金资助项目(81330047)。

** 通讯联系人。

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

收稿日期: 2017-06-30, 接受日期: 2017-07-04

祖森课题组发现, CD133 和 CD13 双阳性的肝癌细胞比其单阳性细胞具有更强的自我更新和致瘤能力, 因此 CD133 和 CD13 联合能够分离肝癌干细胞, 表明同一种肿瘤干细胞拥有多种标志物^[8-10].

然而, 现在发现的很多肿瘤干细胞的表面标志物, 在正常组织干细胞中亦存在, 肿瘤干细胞特有的标志物尚有待进一步发现鉴定.

1.2 肿瘤干细胞的调控通路

肿瘤干细胞身处肿瘤干细胞的微环境(niche)中, 肿瘤干细胞中有一些保守的信号通路. 研究最多的有 Wnt/ β -catenin、Hedgehog、Notch、BMP、Pten 等信号途径^[9]. 这些信号途径多数在低等生物中发现, 在生物进化过程中极其保守, 并且在胚胎发育和器官发育过程中发挥着重要作用.

在多种肿瘤干细胞中, Wnt/ β -catenin 信号通路是研究得最多的信号通路. Wnt/ β -catenin 信号参与多种重要生理和病理过程, 包括发育分化、器官形成和肿瘤发生等等^[11]. Wnt/ β -catenin 信号通路由 β -catenin(β 联蛋白)和 TCF(T 细胞因子)介导^[12], 下游靶基因有 c-Myc、CCND1、CCND2、Axin2、Sox4、TCF7、Ascl2 和 Lgr5 等等. 当 Wnt 通路处于抑制状态时, β -catenin 在细胞浆中形成 APC 复合物, 造成 β -catenin 的降解^[13]. 当 Wnt 活化时, β -catenin 降解复合物解离, β -catenin 入核, 与 TCF/LEF 形成活化复合物, 启动 Wnt/ β -catenin 下游靶基因的表达^[14], 在肿瘤干细胞的自我更新中发挥着重要的调节作用.

Notch 信号通路也参与了多种肿瘤干细胞自我更新的调控^[15]. Notch 蛋白分布于细胞膜上, 在物种之间极其保守. 当 Notch 配体(如 DLL1、DLL4 等)结合 Notch 之后, Notch 会被金属蛋白酶和 γ 分泌酶切割, 产生稳定的 Notch 胞内段(NICD). NICD 带有核定位信号(NLS), 能够入核, 激活 Notch 靶基因的表达, 主要的有 HES 家族、HEY 家族、NRARP 等等^[16].

Hedgehog 信号通路在基底细胞瘤等肿瘤干细胞中发挥着重要作用^[4, 17]. Hedgehog 信号传递受靶细胞膜上两种受体 Patched 和 Smo 的控制. Patched 受体抑制 Hedgehog 通路的活化, 而 Smo 受体促进 Hedgehog 通路活化. Smo 受体是 Hedgehog 信号传递所必需的受体, 激活 Smo 受体即可导致 Hedgehog 靶基因的活化.

除了 Wnt/ β -catenin 信号, Hedgehog 信号和 Notch 信号, 还有多种信号通路参与特定类型肿瘤

干细胞的自我更新, 如肺癌干细胞能够分泌 SCF-c-Kit, 通过自分泌途径促进其自我更新^[18], Pten 信号通路在食管癌和乳腺癌干细胞中发挥关键作用^[19-20], Yap1 信号通路在结直肠癌干细胞和肝癌干细胞中发挥作用^[21-22]. 和真核生物常见的蛋白质翻译后修饰(如磷酸化、糖基化等)介导信号活化不同, Wnt/ β -catenin、Hedgehog、Notch 等信号通路多是通过蛋白质切割而传递信号的. 这种进化初级、形式简单却有效的信号转导方式在低等生物中普遍存在, 进化非常保守, 也说明了其重要性.

1.3 肿瘤干细胞研究前沿

肿瘤干细胞是肿瘤产生、转移、耐药和复发的原因, 因此, 对肿瘤干细胞的深入理解有重大的科学和临床意义, 肿瘤干细胞的研究也受到越来越多的研究者关注. 当今肿瘤干细胞领域的研究热点有: a. 肿瘤干细胞的来源; b. 肿瘤干细胞的可塑性; c. 肿瘤干细胞的干性调控; d. 肿瘤干细胞的微环境.

对于肿瘤干细胞的起源问题仍存在争议, 归纳起来, 目前有几种肿瘤干细胞的起源假说. a. 分化的终末体细胞经过癌变重编程, 成为肿瘤干细胞; b. 正常组织干细胞积累基因突变发生恶性转化, 形成肿瘤干细胞; c. 肿瘤微环境的改变, 使肿瘤细胞去分化成为肿瘤干细胞. 对于特定肿瘤来说, 肿瘤干细胞的来源以一种或几种途径为主. 某些肿瘤发生过程中, 正常组织干细胞是肿瘤干细胞及肿瘤发生的主要来源, 如结直肠癌和小肠腺癌干细胞. 多家实验室的谱系示踪结果显示, 肠癌是由肠道干细胞产生的^[23-26]. 范祖森课题组^[27]通过膀胱癌干细胞、膀胱癌非干细胞和正常膀胱干细胞进行单细胞测序, 结果显示膀胱癌干细胞的起源可能是多源性的. 时至今日, 肿瘤干细胞的起源问题得到了越来越多的关注, 但仍然是肿瘤干细胞研究的核心问题之一.

肿瘤产生有分层模型(hierarchical model)和随机模型(stochastic model)两种. 传统的肿瘤干细胞学说属于分层模型, 认为肿瘤是由肿瘤干细胞一步步产生的, 而非干细胞则会克隆衰竭(clonal exhaustion)而死^[28]. 随机模型认为, 肿瘤是由突变等因素诱导而随机产生的, 任何细胞都有可能产生肿瘤^[29]. 两种学说都有大量的临床和实验数据验证, 极大地困扰着人们对肿瘤起源的认识. 最近研究发现, 一些上皮组织的肿瘤非干细胞能够去分化, 填充肿瘤干细胞群体, 而这种去分化过程可能

是分层的,也可能是突变造成的^[30]. Notch 和 Wnt 等干性信号的异常活化也能够促进肿瘤非干细胞向肿瘤干细胞的转换. 肝癌中, YAP1 的表达与否也能够造成肝癌干细胞和非干细胞之前的命运转换^[22]. 这些研究表明, 肿瘤干细胞具有可塑性, 干细胞和非干细胞之间是可以转化的, 肿瘤干细胞的可塑性能够将肿瘤的分层模型和随机模型融合起来, 成为当今肿瘤干细胞研究的前沿.

肿瘤干细胞自我更新的调控机制, 一直是肿瘤干细胞的研究热点. 除了传统的 Wnt/ β -catenin 信号、Hedgehog 信号、Notch 信号、Pten 信号和 BMP 信号等干性信号途径, 一些新的调控因子也参与了肿瘤干细胞自我更新的调控, 如转录因子 (Nanog^[31]、Zic2^[9]、c-Myc^[32]、Sox2^[33])、microRNA (mir143/mir145^[34]、miR-200^[35])和长链非编码 RNA (lncRNA)等等. 其中, lncRNA 在多个生理和病理

过程中发挥着重要作用, 成为肿瘤干细胞研究的一大热点(表 1).

和正常组织干细胞一样, 肿瘤干细胞也存在于特定的微环境中. 肿瘤干细胞的微环境是肿瘤微环境的组成部分, 包括细胞-细胞接触、分泌型因子等等. 肿瘤非干细胞和肿瘤干细胞本身都可以作为肿瘤干细胞的微环境. 在肿瘤发生过程中, 肿瘤干细胞的状态取决于肿瘤微环境, 特别是肿瘤干细胞的微环境^[36]. 肿瘤干细胞的微环境可以维持肿瘤干细胞的可塑性, 保护肿瘤干细胞免受免疫系统攻击, 也可以促进其转移. 肿瘤干细胞对其微环境的塑造、肿瘤干细胞的微环境对肿瘤干细胞自我更新的影响、针对于肿瘤干细胞微环境的靶向治疗等问题, 已成为肿瘤干细胞研究的前沿问题, 下面我们将详细介绍这一领域的研究进展.

Table 1 Surface markers and signaling pathways of CSCs in some common tumors
表 1 常见肿瘤的肿瘤干细胞标志物和信号通路

肿瘤类型	肿瘤干细胞标志物	主要干性通路	参与的 lncRNAs
肺癌	CD44 ⁺ CD24 ⁺ ^[37] , CD133 ⁺ ^[38]	Wnt/ β -catenin ^[39] , SCF-c-kit ^[18]	MALAT1 ^[40]
肝癌	CD133 ⁺ ^[41] , CD13 ⁺ ^[42] , CD45-CD90 ⁺ ^[43]	Wnt/ β -catenin ^[44] , Notch ^[45]	lncTCF7 ^[8] , lnc β Catm ^[10]
食管癌	ALDH1A1 ⁺ ^[46]	Pten/PI3K/Akt ^[19]	—
乳腺癌	ALDH1 ⁺ ^[47] CD44 ⁺ CD24 ⁺ ^[48]	JAK2/STAT3 ^[49] , Pten ^[20]	SOX2OT ^[50]
胃癌	CD44 ⁺ ^[51] , CD133 ⁺ ^[52] , ALDH1 ⁺ ^[52]	Hedgehog ^[53]	HOTAIR ^[54]
胰腺癌	CD133 ⁺ CXCR4 ⁺ ^[55]	Hedgehog ^[56]	MALAT1 ^[57]
结直肠癌	Lgr5 ⁺ ^[25-26]	Wnt/ β -catenin ^[25-26] , Yap1 ^[21]	HOTAIR ^[58] , PVT1 ^[32]
肾癌	CD133 ⁺ ^[59] , CD105 ⁺ ^[60]	Hedgehog ^[61]	—
前列腺癌	CD44 ⁺ ^[62]	Hedgehog ^[63]	PCAT18 ^[64]
膀胱癌	CD47 ⁺ ^[65] , ABCG2 ⁺ ^[66]	Hedgehog ^[67] , Wnt/ β -catenin ^[67]	—
宫颈癌	CD44 ⁺ ^[68] , CD49 ⁺ ^[68]	Notch ^[69]	—
白血病	CD133 ⁺ , CD34 ⁺ /CD38 ⁺ ^[7]	Wnt/ β -catenin ^[70] , Hedgehog ^[71]	LUNAR1 ^[72]
脑瘤	CD133 ⁺ ^[73-74] , CD44 ⁺ ^[75]	Notch ^[76] , Pten ^[77]	XIST ^[78]

“—”表示尚无报道.

2 肿瘤干细胞的微环境

如上所述, 肿瘤干细胞处在特定的微环境中, 这对于其功能的发挥至关重要. 作为肿瘤微环境的有机组成部分, 肿瘤干细胞微环境是一个复杂、统一的整体. 肿瘤干细胞微环境中的细胞及其因子能够促进肿瘤干细胞的自我更新、诱导血管生成、招募免疫细胞和基质细胞等, 促进肿瘤侵袭和转移^[79]. 为了便于理解, 我们将从炎性微环境、血管微环

境、缺氧微环境、前转移微环境、细胞外基质和临近细胞及其细胞因子等方面分别予以叙述(图 1).

2.1 炎性微环境

慢性炎症是肿瘤微环境的一大特征, 能够促进肿瘤细胞增殖和肿瘤转移^[80]. 肿瘤免疫和肿瘤干细胞微环境之间的相互关系, 也成了肿瘤干细胞微环境研究的热点. 肿瘤发生过程中, 必须摆脱免疫系统的监视, 同时能够有效地抑制 CD8⁺ T 细胞、NK 细胞等杀伤细胞的浸润和细胞毒性, 导致免疫逃

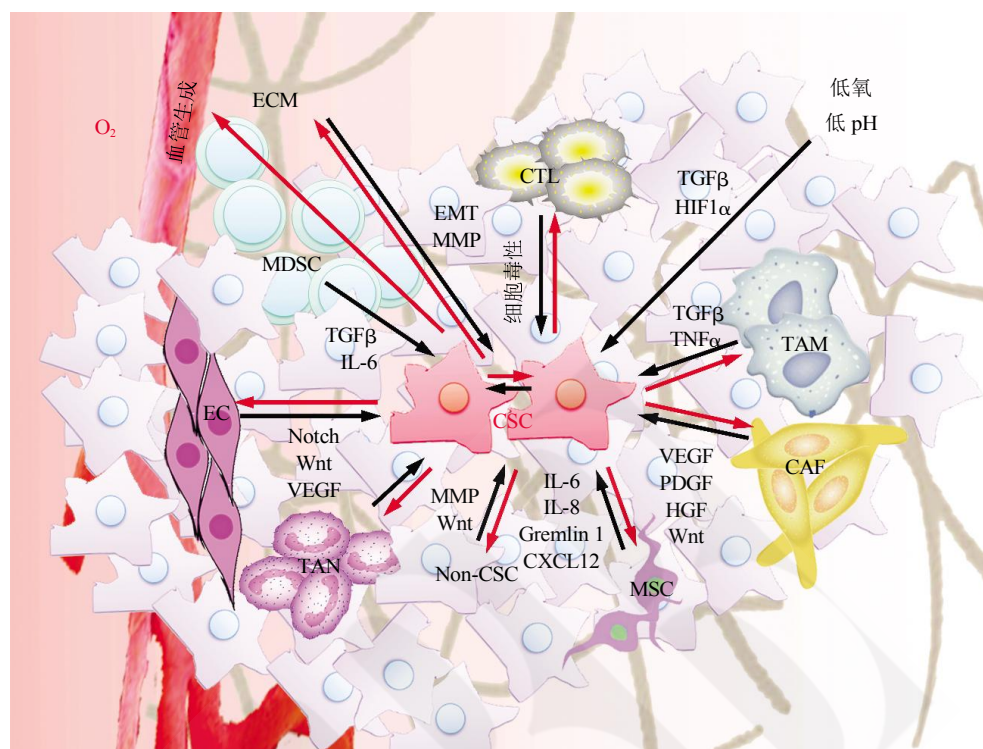


Fig. 1 Niches of cancer stem cells

图 1 肿瘤干细胞的微环境

肿瘤干细胞(CSC)的微环境组分: 血管内皮细胞(EC)、肿瘤相关中性粒细胞(TAN)、肿瘤相关成纤维细胞(CAF)、肿瘤相关巨噬细胞(TAM)、间充质干细胞(MSC)、骨髓来源的抑制性细胞(MDSC)、细胞毒性淋巴细胞(CTL)、肿瘤非干细胞(non-CSC)、细胞外基质(ECM)和缺氧弱酸环境。微环境对肿瘤干细胞的作用用黑色箭头和黑字显示, 肿瘤干细胞对微环境的塑造作用用红色箭头显示。

逸^[81]。因此通常来说, 肿瘤和肿瘤干细胞的微环境是免疫抑制性的。研究发现, 肿瘤抗原能够封闭 CD103⁺ 树突状细胞, 阻止其对 CD8⁺ T 细胞的刺激活化^[82]。除此之外, 肿瘤细胞还能够分泌多种趋化因子和细胞因子, 招募肿瘤相关巨噬细胞(TAM)、肿瘤相关中性粒细胞(TAN)、髓系来源的抑制性细胞(MDSC)等多种免疫细胞, 共同构成免疫抑制性微环境。肿瘤相关巨噬细胞能够分泌 TGF- β , 招募调节性 T 细胞(Treg)参与肿瘤抑制^[83]。髓系来源的抑制性细胞能够分泌 IL-6、TGF- β 和其他一些细胞因子, 招募 Th17 细胞参与免疫抑制^[81]。TAM 和 TAN 分别从极化的巨噬细胞和中性粒细胞分化而来, 在肿瘤和肿瘤干细胞微环境中, 被重塑为促进肿瘤细胞, 能够促进肿瘤生长和血管生成^[84]。肿瘤相关巨噬细胞还能够促进细胞外基质的降解, 同时分泌外泌体, 将 mRNA、microRNA 等释放到不同组织中, 最终促进肿瘤的侵袭和转移^[81]。在炎性微环境中, 肿瘤相关巨噬细胞和 CD4⁺ T 细胞还能够分泌 TNF- α , 上调 NF- κ B 信号通路, 进而诱导 Slug、

Snail 和 Twist 等的表达, 促进上皮 - 间质转换 (EMT), 同时能够增强和 TGF- β 信号通路的互作, 最终促进了肿瘤干细胞的自我更新^[85]。

2.2 血管周围微环境

肿瘤干细胞在肿瘤中的定位一直是肿瘤干细胞研究的重点。早期的研究发现一些肿瘤干细胞分布在血管周围, 提出了血管周围微环境的概念。人们首先在脑部肿瘤中发现血管内皮细胞和肿瘤干细胞存在直接接触。当肿瘤干细胞和血管内皮细胞共培养时, 干性小球可以增大 5 倍。病人样本中肿瘤干细胞沿着肿瘤毛细血管分布, 数量也与血管密度相关^[86]。神经胶质瘤干细胞也倾向于定位在血管周围, 因为血管周围提供了较强的 Hedgehog、Notch 和 PI3K 活化信号; 乳腺癌、肺癌和黑色素瘤脑转移过程中, 转移灶一般也在血管周围^[87]。血管周围微环境可以维持肿瘤干细胞的未分化状态, 增强肿瘤干细胞对辐射的耐受。同时, 肿瘤干细胞和血管的相互作用, 能够通过 VEGF-Nrp1 环路促进肿瘤干细胞的自我更新^[88]。这些研究都证明血管周围微

环境和血管内皮细胞对肿瘤干细胞干性维持的关键作用。

血管周围微环境影响肿瘤干细胞, 肿瘤干细胞也能够分泌一些微囊泡, 促进内皮细胞形成管样结构。肿瘤干细胞和血管微环境的互作关系, 在很大程度上, 使肿瘤干细胞不断得到填充, 血管也不断生成。

2.3 缺氧微环境

虽然肿瘤干细胞的血管周围微环境研究越来越多, 最近的研究发现, 很多肿瘤干细胞也定位于肿瘤内部, 远离血管, 呈缺氧状态, 被称为肿瘤干细胞的第二微环境(即缺氧微环境)。其实, 肿瘤内部的很多细胞与血管距离较远, 氧气的供应受到限制, 因此肿瘤微环境总体来讲是缺氧微环境。

缺氧的肿瘤干细胞能够限制 CD8⁺ T 细胞的增殖和活化^[89]。缺氧能够保护肿瘤干细胞免受化疗和辐射治疗的伤害, 也能够通过 ROS 活化的应激通路和 TGF β 信号通路促进肿瘤干细胞的存活和 EMT 转化。同时, 缺氧可以活化 Wnt 信号通路, 促进肿瘤细胞处于非分化状态, 维持肿瘤干细胞的自我更新^[90]。在多种实体瘤中, 内皮细胞能够通过细胞-细胞接触或者 Notch 信号促进肿瘤干细胞自我更新, 而低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)能够直接增加 Notch 通路的活性^[29]。同时, HIF-1 α 也能够减慢细胞周期, 减少肿瘤干细胞的 DNA 损伤, 维持肿瘤干细胞的干性^[91]。

提到缺氧微环境, 我们需要关注一下肿瘤代谢途径的异常。在有氧条件下, 正常细胞代谢途径倾向于氧化磷酸化; 然而, 即使氧气供应充分时, 肿瘤细胞仍然进行着活跃的糖酵解过程, 产生大量的乳酸。肿瘤的这种有氧糖酵解代谢被称为瓦博格效应。因此, 肿瘤组织的 pH 较正常组织低, 一般在 6.65 左右。这种酸性刺激也能够促进胶质瘤干细胞标志物的表达、自我更新和肿瘤增殖^[92]。但是, 肿瘤干细胞对糖酵解和氧化磷酸化的依赖性尚存在较大争议, 视肿瘤类型不同而不同。

有趣的是, 缺氧微环境和血管周围微环境并不是对立的。缺氧微环境也能够促进血管生成。缺氧能够诱导肿瘤干细胞表达 HIF 因子, 而 HIF 因子则是诱导产生 VEGF 和血管生成的关键因子。在缺氧环境下, 内皮细胞和肿瘤干细胞都会产生 VEGF 刺激血管生成。在肿瘤的缺氧区域, VEGF-A 能够招募单核细胞和巨噬细胞。巨噬细胞被肿瘤细胞分泌的 M-SCF 刺激, 也能够促进血管

生成^[81]。

2.4 前转移微环境

肿瘤干细胞, 以及肿瘤干细胞产生的具有干细胞性质的细胞都可以启动肿瘤转移过程。测序结果显示, 转移灶干细胞和原发灶肿瘤干细胞具有高度的相似性, 同时, 转移中至关重要的循环肿瘤细胞和肿瘤干细胞也存在极大的相似性, 表达肿瘤干细胞标志物的循环肿瘤细胞在血液中发现。这些发现都说明肿瘤干细胞和肿瘤转移之间的密切关系^[93]。

肿瘤转移受多种因素控制, 如 VEGF、EGF 和金属蛋白酶等。原发灶肿瘤能在转移器官诱导产生一种支撑性微环境, 促进循环肿瘤细胞在转移灶的定居和克隆, 这种支撑性微环境即前转移(pre-metastatic)微环境。前转移微环境有六大特征: 免疫抑制、炎症、血管生成、淋巴管生成、亲器官性和重编程^[94]。前转移微环境为肿瘤干细胞在转移灶中的克隆扩增提供了土壤。肿瘤转移部位富含血管、微环境细胞和微环境因子, 维持着肿瘤干细胞的存活和可塑性^[4]。肿瘤原发灶也会分泌外泌体等因子, 对潜在的转移灶的微环境进行重塑。在转移过程中, 为了减少血液液流剪力和 NK 细胞等的杀伤, 肿瘤细胞往往和血小板结合在一起, 形成一个物理屏障。循环肿瘤细胞和血小板的结合, 也能够诱导 EMT 转化以及肿瘤干细胞特征的获得^[36]。血管壁上的 TIE2⁺ 巨噬细胞能够引导肿瘤细胞沿着胶原纤维迁移到转移灶; 同时转移过程中的肿瘤细胞也能够分泌 EGF 等因子, 引导肿瘤细胞向转移灶的定居^[83]。转移细胞到达转移灶之后, 也能够对其微环境进行重塑。乳腺癌肺转移灶中, 肿瘤干细胞能够诱导肺部成纤维细胞 Periostin 的表达, 而 Periostin 能够结合 Wnt 配体, 维持肿瘤干细胞的存活和干性。同时, 肿瘤干细胞还能够招募肿瘤相关巨噬细胞、髓系前体细胞和间充质细胞等, 形成一个旁分泌微环境, 维持肿瘤干细胞的自我更新^[81]。

2.5 细胞外基质

细胞外基质属于肿瘤干细胞微环境的非细胞组分。实体瘤发生过程中, 伴随着细胞外基质的机械压力增加, 是化学药物治疗的一大屏障, 从而能够保护肿瘤细胞和肿瘤干细胞免受化疗药物的伤害^[79]。肿瘤细胞能够分泌多种金属蛋白酶, 降解细胞外基质, 促进血管生成, 进而促进肿瘤侵袭和转移。金属蛋白酶能够促进 EMT 转化, 增加肿瘤干细胞相关基因的表达; 同时, 多种金属蛋白酶可以促进 Wnt 信号活化和肿瘤干细胞的自我更新^[95]。

在肿瘤干细胞微环境中, 干细胞和微环境的直接接触对干细胞的自我更新非常重要. 肿瘤干细胞也利用细胞-细胞接触维持其干性特征和功能. 例如, 间充质干细胞需要和肿瘤干细胞直接接触, 才能更有效地发挥其功能^[96]. Hedgehog 和 Notch 信号通路也需要细胞-细胞之间的相互作用.

2.6 邻近细胞及其细胞因子

肿瘤干细胞的邻近细胞为肿瘤干细胞提供了营养、细胞因子等, 是肿瘤干细胞微环境的重要组成部分. 研究较多的邻近细胞有血管内皮细胞、免疫细胞、间充质干细胞、肿瘤相关成纤维细胞、肿瘤干细胞和肿瘤非干细胞. 血管内皮细胞和免疫细胞我们已经介绍过, 下面简单介绍间充质干细胞、肿瘤相关成纤维细胞、肿瘤干细胞和肿瘤非干细胞在肿瘤干细胞微环境中的作用.

间充质干细胞是一种具有多能性的基质细胞, 能通过多种机制促进肿瘤细胞增殖和转移, 促进血管生成和肿瘤的免疫逃逸. 间充质干细胞能够分泌多种因子到微环境中, 维持肿瘤干细胞的干性. 例如, 间充质干细胞能产生大量的 CXCL12、IL-6 和 IL-8 等, 通过活化 NF- κ B 通路促进肿瘤干细胞的自我更新, 还能够产生 BMP 的拮抗剂 Gremlin 1, 使肿瘤干细胞处于未分化状态^[97]. 在乳腺癌中, 间充质干细胞能够上调肿瘤细胞中 miR-199a 的表达, 进而抑制 FoxP2 的表达量, 使肿瘤非干细胞获得肿瘤干细胞特征^[98].

肿瘤组织中的内皮细胞和肿瘤干细胞可以分泌多种细胞因子, 将正常的成纤维细胞转化为肿瘤相关成纤维细胞(CAF)^[99]. 和正常的成纤维细胞相比, 肿瘤相关的成纤维细胞增殖更快, 产生的细胞外基质更多, 同时会分泌一些独特的细胞因子(如 VEGF、PDGF、HGF 和 CXCL12 等). 肿瘤相关成纤维细胞能够活化 Wnt 和 Notch 信号通路, 促进肿瘤干细胞的自我更新. 如上所述, Wnt 信号在多种肿瘤干细胞的自我更新中发挥重要作用. 一些肿瘤非干细胞在 Wnt 通路活化时, 可以去分化成为肿瘤干细胞. Notch 通路同样参与肿瘤干细胞的维持和命运决定. 乳腺癌、肝癌和前列腺癌异常高表达 Notch 受体, 同时, Notch 配体的表达与预后也有密切关系^[45]. 此外, 肿瘤相关成纤维细胞能够产生 MMP2、MMP3 和 MMP9 等金属蛋白酶, 重塑细胞外基质, 促进 EMT 和肿瘤干细胞的自我更新^[80].

肿瘤干细胞自身可以分泌多种因子, 促进招

募、活化或产生一些特定的细胞类型, 促进其未分化状态的维持和调控. 乳腺癌干细胞能够产生 IL-6, 促进间充质干细胞产生 CXCL7, 进而维持肿瘤干细胞的干性^[100]. 肿瘤干细胞能够分泌多种巨噬细胞趋化因子, 在肿瘤相关巨噬细胞的招募过程中发挥重要作用^[101], 还能够释放 HIF1 α 、VEGF-A 和 CXCL12 等, 进而促进血管再生^[79]. 同时, 肿瘤干细胞也可以产生包括 TGF β 在内的多种细胞因子, 促进成纤维细胞转化成为肿瘤相关的成纤维细胞. MMP10 在多种肿瘤干细胞中高表达, 和肿瘤的转移密切相关^[102].

肿瘤非干细胞也可以作为肿瘤干细胞的微环境. 一些炎症微环境, 促进了 NF- κ B 信号和 Wnt 信号, 可以诱导肿瘤非干细胞获得肿瘤起始能力. 而且, 一些并没有可塑性的肿瘤非干细胞, 也可以通过刺激其他细胞(包括肿瘤干细胞)的增殖, 诱导肿瘤产生^[103].

3 肿瘤干细胞及其微环境的干预策略

肿瘤干细胞学说认为肿瘤干细胞是肿瘤的“种子”, 是肿瘤产生的根源. 由于肿瘤干细胞处于静息状态, 能够逃避靶向细胞增殖的化疗药物; 同时, 肿瘤干细胞高表达 ABCG2 等“药泵”, 可将药物泵出细胞外. 因此肿瘤干细胞能够有效地逃避化疗药物的伤害. 同时, 肿瘤干细胞能够有效地避免失巢凋亡, 是肿瘤转移的基础^[104]. 肿瘤干细胞的存在, 既是肿瘤的“种子”, 又能够抵抗现在多数的抗肿瘤药物. 撤去化疗药物之后, 残留的肿瘤干细胞能够起始形成一个新的肿瘤, 这也是肿瘤复发的原因所在. 因此, 靶向肿瘤干细胞的干预策略是生物医学研究的当务之急.

3.1 针对肿瘤干细胞表面标志物的干预措施

随着研究的深入, 越来越多的肿瘤干细胞表面标志物被发现(表 1). 肿瘤干细胞表面标志物和功能性膜蛋白为肿瘤干细胞靶向干预提供了靶点. CD13 是肝癌干细胞的表面标志物, 针对 CD13 的抗体可以有效清除肝癌干细胞^[42]. 范祖森课题组筛选了针对膀胱癌的抗体, 发现 BCMab1 抗体识别膀胱癌干细胞表面异常糖基化整合素 $\alpha 3\beta 1$, 可作为膀胱癌干细胞的标志物, BCMab1 抗体与蓖麻子毒素偶联的免疫毒素药物(BCMab1-Ra)显著抑制膀胱癌的生长^[17, 105]. CD133 作为多种肿瘤干细胞的表面标志物, 其阻断性抗体也用于肿瘤的靶向干预研究(表 1). 然而, 一个较大的问题是, 目前发现的

肿瘤干细胞标志物大多数在相应的正常组织干细胞中表达, 极大地限制了这些抗体在临床治疗中的应用。

除了表面标志物, 一些对肿瘤干细胞比较重要的功能性膜蛋白也可以作为治疗靶标, 其典型案例是 RSPO3 抗体在结直肠癌中的应用。一个广为接受的观点是结直肠癌源于肠道干细胞(Lgr5⁺ 隐窝底部柱状细胞)^[23-26], 而 RSPO 蛋白是 Lgr5 的配体, 对肠道干细胞的自我更新至关重要, 因此是肠癌干细胞干预的潜在靶标^[106]。RSPO3 抗体处理的结直肠癌细胞, 其自我更新能力减弱, Lgr5 阳性的干细胞大量分化, 能够显著抑制肿瘤生长^[106]。

3.2 针对肿瘤干细胞信号通路的干预措施

Wnt/ β -catenin、Hedgehog、Notch、BMP 和 Pten 等信号通路在肿瘤干细胞的自我更新中发挥重要作用, 也是肿瘤干细胞治疗的理想靶标。在细胞系和小鼠体内的实验证明, Wnt/ β -catenin、Notch 和 Hedgehog 等信号通路的抑制剂可以很好地抑制肿瘤干细胞的自我更新^[10, 17, 45]。和肿瘤干细胞表面标志物存在的问题类似, 肿瘤干细胞信号通路在正常组织干细胞自我更新过程中同样重要, 限制了其在临床中的应用。

虽然肿瘤干细胞对传统肿瘤治疗(如放疗、化疗等)有着天然的抵抗能力, 但是肿瘤干细胞对某些特定的治疗方案可能具有更强的敏感性。雷帕霉素能够将 Pten 缺失型白血病中的肿瘤干细胞清除, 恢复正常造血干细胞表型^[107]。G-CSF 处理能够将急性淋巴系白血病干细胞从静息状态进入细胞周期, 增加白血病干细胞对药物的敏感性^[108]。BMP4 能够诱导小鼠恶性胶质瘤干细胞成为神经胶质细胞。

3.3 改变肿瘤干细胞微环境

如 3.1 和 3.2 所述, 由于肿瘤干细胞和正常组织干细胞在表面标志物和信号通路等方面的相似性, 肿瘤的直接靶向干预很难在临床中获得突破。肿瘤干细胞微环境对肿瘤干细胞的自我更新非常重要, 是肿瘤干细胞赖以生存的“土壤”, 因此, 对肿瘤干细胞微环境的靶向干预将成为肿瘤治疗的新思路, 或许能够取得比靶向肿瘤干细胞本身具有更好的治疗效果。纤维连接蛋白(fibronectin)和透明质酸能够保护肿瘤和肿瘤干细胞免受化学药物的杀伤, 而针对于纤维连接蛋白受体整合素 $\alpha 4 \beta 1$ 的抗体能够阻止转移过程中肿瘤细胞与转移灶微环境的结合^[109]。缺氧微环境靶向治疗也可以用于靶向肿瘤干细胞, 其中 HIF-1 α 和 HIF-2 α 都是很好的肿瘤

靶点, 在胶质瘤等肿瘤治疗中获得了较大成功。血管生长抑制性药物在多种肿瘤治疗中已经取得了较好的效果。靶向 VEGF 的抗血管治疗(如贝伐珠单抗克隆抗体 Bevacizumab)能够有效地抑制肿瘤干细胞的自我更新, 进而抑制肿瘤生长和转移, 在临床治疗中获得了巨大成功^[79]。胰腺癌中, 抑制 CCR2 或者 M-CSF 受体能够清除肿瘤相关巨噬细胞, 能够导致肿瘤干细胞数量减少, 耐药性和转移能力均明显降低^[110]。

鉴于肿瘤免疫治疗的飞速发展, 肿瘤的免疫微环境成了肿瘤干预的重要靶标。肿瘤微环境中免疫细胞的功能受到限制, 不能行使正常的免疫监视功能, 造成肿瘤细胞的免疫逃逸。因此, 改善肿瘤微环境中免疫细胞的活性, 促进其对肿瘤细胞的杀伤, 是肿瘤治疗的新策略。肿瘤疫苗、PD1/PDL1 抗体和嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法(CAR-T)等肿瘤免疫治疗的前沿领域, 也正是着眼于肿瘤和肿瘤干细胞的免疫微环境。肿瘤疫苗是将肿瘤抗原以多种形式导入患者体内, 克服肿瘤微环境中的免疫抑制状态, 激活患者自身的免疫系统, 诱导免疫系统杀伤肿瘤细胞。肿瘤细胞高表达 PDL1, 通过激活免疫细胞表面的 PD1 信号, 从而抑制免疫细胞的活化。PD1 和 PDL1 抗体能够阻断 PD1/PDL1 共抑制信号, 解除肿瘤对免疫细胞的抑制, 促进免疫细胞对肿瘤的杀伤。除了 PD1, CTLA4 的单克隆抗体对肿瘤也有良好的治疗效果^[111]。CAR-T 则直接改造获得对肿瘤有杀伤作用的 T 细胞, 用于肿瘤治疗, 在急性白血病和非霍奇金淋巴瘤的治疗上有显著效果。总体来说, 与传统治疗方案相比, 肿瘤免疫治疗对肿瘤干细胞的损伤更大, 给肿瘤治疗带来了新希望, 但其精确的分子机制需要进一步研究。

4 前景展望

4.1 靶向肿瘤干细胞的治疗展望

肿瘤干细胞的靶向治疗给人们指出了根治肿瘤的方向, 是肿瘤治疗的研究趋势和未来希望。然而, 肿瘤干细胞的靶向治疗仍然面临特异性、异质性和可塑性等多个难题。

现在发现的肿瘤干细胞表面标志物往往也是相应的正常组织干细胞的标志物, 所发现的信号通路对肿瘤干细胞和正常干细胞的自我更新同样重要。肿瘤干细胞和组织干细胞的相似性, 在一定程度上解释了肿瘤干细胞来源于组织干细胞的合理性, 对研究肿瘤干细胞的来源问题有重要意义。但是, 这

种相似性极大限制了现在已经发现的肿瘤干细胞的标志物和信号通路在靶向治疗中的应用。同时,现阶段发现肿瘤干细胞的受体大多数是表达受体而非功能性受体,因此用于治疗干预并非上策。针对于肿瘤干细胞的高通量筛选可以客观地寻找肿瘤干细胞新的靶向元件。未来的一个研究方向,应该综合考虑正常干细胞、肿瘤干细胞和肿瘤非干细胞的差异,找到肿瘤干细胞中特异性的标志物,为肿瘤干细胞的靶向治疗提供实验支撑。

肿瘤干细胞的异质性问题也制约着肿瘤干细胞的靶向治疗。随着研究的深入,人们发现肿瘤干细胞本身也有异质性。膀胱癌干细胞单细胞测序的结果显示,肿瘤干细胞的来源可能是多样的^[27]。同一种肿瘤中,人们往往能够鉴定出多个肿瘤干细胞的表面标志物,且这些标志物代表的往往不是同一类群细胞^[8]。肿瘤干细胞的异质性,增加了肿瘤干细胞靶向治疗的难度。客观、全面地鉴定肿瘤干细胞类群,同时靶向多种肿瘤干细胞,可能会有所裨益。

肿瘤干细胞靶向治疗的另一个难题是肿瘤干细胞的可塑性。因为肿瘤细胞一直在突变和克隆进化,针对于现阶段肿瘤干细胞的治疗之后,新的肿瘤干细胞可以从非干细胞再生出来,并且,再生出的肿瘤干细胞会对原先的治疗方案产生抵抗^[30]。杀死肿瘤细胞,肿瘤干细胞会分化产生出耐药的肿瘤细胞;同样,杀死肿瘤干细胞,肿瘤细胞也会去分化,产生抵抗治疗的肿瘤干细胞。肿瘤细胞和肿瘤干细胞的这种命运转换,是肿瘤干细胞靶向治疗的又一难题。

4.2 靶向肿瘤干细胞微环境的治疗展望

由于肿瘤干细胞本身治疗的限制性,靶向肿瘤干细胞微环境的治疗方式给肿瘤治疗提供了新思路。这种策略取得了较大进展,一些靶向微环境的药物已经在临床上获得成功。但是,不同的肿瘤类型,或是同种肿瘤的不同发展阶段,肿瘤干细胞对微环境的依赖程度有很大差别,但其机制尚需进一步阐明。

肿瘤干细胞、肿瘤干细胞微环境的靶向干预和传统治疗相结合,是未来肿瘤治疗的一大趋势。单独传统治疗不能杀死肿瘤干细胞,因此容易造成肿瘤转移;针对肿瘤干细胞本身的治疗也存在特异性、异质性和可塑性等弊端。综合传统治疗、肿瘤干细胞靶向治疗和肿瘤干细胞微环境靶向治疗,能够全方位地消除肿瘤潜在的复发因子。同时,传统

化疗放疗等治疗手段,能够帮助重塑肿瘤干细胞的微环境,使一些微环境组分暴露出来,进而显著提高肿瘤干细胞靶向和肿瘤干细胞微环境靶向的治疗效果。IFN γ 结合传统抗肿瘤药物奥沙利铂能够同时清除肿瘤干细胞和普通肿瘤细胞^[112]。针对于免疫系统的药物和传统治疗方案的结合也处于临床评估状态。例如,CD40的激活剂和传统化疗药物吉西他滨联合治疗对治疗胰腺癌有初步疗效^[111]。总体而言,联合治疗仍然是未来肿瘤治疗的趋势,也给肿瘤干细胞及其微环境研究,提出了更高的要求。我们也期待在上述研究领域取得重大突破,为治愈肿瘤带来新希望。

参 考 文 献

- [1] McGuire S. World Cancer Report 2014. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, WHO Press, 2015. *Adv Nutr*, 2016, **7**(2): 418-419
- [2] Chen W, Zheng R, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2016, **66**(2): 115-132
- [3] Takebe N, Miele L, Harris P J, *et al.* Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: clinical update. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, **12**(8): 445-464
- [4] Takebe N, Harris P J, Warren R Q, *et al.* Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, **8**(2): 97-106
- [5] Chiba T, Kita K, Zheng Y W, *et al.* Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. *Hepatology*, 2006, **44**(1): 240-251
- [6] Cao L, Zhou Y, Zhai B, *et al.* Sphere-forming cell subpopulations with cancer stem cell properties in human hepatoma cell lines. *BMC Gastroenterol*, 2011, **11**: 71
- [7] Terstappen L W, Huang S, Safford M, *et al.* Sequential generations of hematopoietic colonies derived from single nonlineage-committed CD34⁺CD38⁻ progenitor cells. *Blood*, 1991, **77** (6): 1218-1227
- [8] 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
- [9] Zhu P, Wang Y, He L, *et al.* ZIC2-dependent OCT4 activation drives self-renewal of human liver cancer stem cells. *J Clin Invest*, 2015, **125**(10): 3795-3808
- [10] Zhu P, Wang Y, Huang G, *et al.* lnc-beta-Catm elicits EZH2-dependent beta-catenin stabilization and sustains liver CSC self-renewal. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, **23**(7): 631-639
- [11] Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell*, 2006, **127**(3): 469-480
- [12] MacDonald B T, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell*, 2009, **17** (1): 9-26
- [13] Wu G, Xu G Z, Schulman B A, *et al.* Structure of a beta-TrCP1-

- Skp1-beta-catenin complex: Destruction motif binding and lysine specificity of the SCF beta-TrCP1 ubiquitin ligase. *Mol Cell*, 2003, **11**(6): 1445–1456
- [14] Korinek V, Barker N, Morin P J, *et al.* Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC^{-/-} colon carcinoma. *Science*, 1997, **275**(5307): 1784–1787
- [15] Kopan R, Ilagan M X G. The canonical notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism. *Cell*, 2009, **137**(2): 216–233
- [16] Mumm J S, Kopan R. Notch signaling: from the outside in. *Dev Biol*, 2000, **228**(2): 151–165
- [17] Li C, Du Y, Yang Z, *et al.* GALNT1-mediated glycosylation and activation of sonic hedgehog signaling maintains the self-renewal and tumor-initiating capacity of bladder cancer stem cells. *Cancer Res*, 2016, **76**(5): 1273–1283
- [18] Levina V V, Marrangoni A, Wang T T, *et al.* Elimination of human lung cancer stem cells through targeting of the SCF-c-kit autocrine signaling loop. *Cancer Res*, 2010, **70**(1): 338–346
- [19] Li H X, Gao Q L, Guo L P, *et al.* The PTEN/PI3K/Akt pathway regulates stem-like cells in primary esophageal carcinoma cells. *Cancer Biol Ther*, 2011, **11**(11): 950–958
- [20] Zhou J B, Wulfschuhle J, Zhang H, *et al.* Activation of the PTEN/mTOR/STAT3 pathway in breast cancer stem-like cells is required for viability and maintenance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(41): 16158–16163
- [21] Barry E R, Morikawa T, Butler B L, *et al.* Restriction of intestinal stem cell expansion and the regenerative response by YAP. *Nature*, 2013, **493**(7430): 106–110
- [22] 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
- [23] 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
- [24] 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–U119
- [25] Melo F S, 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
- [26] Shimokawa M, Ohta Y, Nishikori S, *et al.* Visualization and targeting of LGR5⁺ human colon cancer stem cells. *Nature*, 2017, **545**(7653): 187–192
- [27] 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
- [28] Greaves M. Cancer stem cells as 'units of selection'. *Evol Appl*, 2013, **6**(1): 102–108
- [29] Quail D F, Taylor M J, Postovit L M. Microenvironmental regulation of cancer stem cell phenotypes. *Curr Stem Cell Res T*, 2012, **7**(3): 197–216
- [30] Chaffer C L, Weinberg R A. How does multistep tumorigenesis really proceed? *Cancer Discov*, 2015, **5**(1): 22–24
- [31] Wang M L, Chiou S H, Wu C W. Targeting cancer stem cells: emerging role of Nanog transcription factor. *OncoTargets and Therapy*, 2013, **6**: 1207–1220
- [32] Tseng Y Y, Moriarity B S, Gong W, *et al.* PVT1 dependence in cancer with MYC copy-number increase. *Nature*, 2014, **512**(7512): 82–86
- [33] Justilien V, Walsh M P, Ali S A, *et al.* The PRKCI and SOX2 oncogenes are coamplified and cooperate to activate Hedgehog signaling in lung squamous cell carcinoma. *Cancer Cell*, 2014, **25**(2): 139–151
- [34] De Vito C, Riggi N, Cornaz S, *et al.* A TARBP2-dependent miRNA expression profile underlies cancer stem cell properties and provides candidate therapeutic reagents in Ewing sarcoma. *Cancer Cell*, 2012, **21**(6): 807–821
- [35] Yuan J H, Yang F, Wang F, *et al.* A long noncoding RNA activated by TGF-beta promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*, 2014, **25**(5): 666–681
- [36] Fessler E, Dijkgraaf F E, De Sousa E M F, *et al.* Cancer stem cell dynamics in tumor progression and metastasis: is the microenvironment to blame? *Cancer Lett*, 2013, **341**(1): 97–104
- [37] Wright M H, Calcagno A M, Salcido C D, *et al.* Brca1 breast tumors contain distinct CD44(+)/CD24(-) and CD133(+) cells with cancer stem cell characteristics. *Breast Cancer Res*, 2008, **10**(1): R10
- [38] Eramo A, Lotti F, Sette G, *et al.* Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ*, 2008, **15**(3): 504–514
- [39] Teng Y, Wang X, Wang Y, *et al.* Wnt/beta-catenin signaling regulates cancer stem cells in lung cancer A549 cells. *Biochem Bioph Res Co*, 2010, **392**(3): 373–379
- [40] Gutschner T, Hammerle M, Eissmann M, *et al.* The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer Res*, 2013, **73**(3): 1180–1189
- [41] Piao L S, Hur W, Kim T K, *et al.* CD133(+) liver cancer stem cells modulate radioresistance in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2012, **315**(2): 129–137
- [42] 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
- [43] Yang Z F, Ngai P, Ho D W, *et al.* Identification of local and circulating cancer stem cells in human liver cancer. *Hepatology*, 2008, **47**(3): 919–928
- [44] Yang W, Yan H X, Chen L, *et al.* Wnt/beta-catenin signaling contributes to activation of normal and tumorigenic liver progenitor cells. *Cancer Res*, 2008, **68**(11): 4287–4295
- [45] Zhu P P, Wang Y Y, Du Y, *et al.* C8orf4 negatively regulates self-renewal of liver cancer stem cells via suppression of NOTCH2 signalling. *Nat Commun*, 2015, **6**: 7122
- [46] Yang L, Ren Y, Yu X, *et al.* ALDH1A1 defines invasive cancer stem-like cells and predicts poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Modern Pathol*, 2014, **27**(5): 775–783
- [47] Ginestier C, Hur M H, Charafe-Jauffret E, *et al.* ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a

- predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell*, 2007, **1** (5): 555–567
- [48] Ponti D, Costa A, Zaffaroni N, *et al.* Isolation and *in vitro* propagation of tumorigenic breast cancer cells with stem/progenitor cell properties. *Cancer Res*, 2005, **65**(13): 5506–5511
- [49] Marotta L L C, Almendro V, Marusyk A, *et al.* The JAK2/STAT3 signaling pathway is required for growth of CD44(+)CD24(-) stem cell-like breast cancer cells in human tumors. *J Clin Invest*, 2011, **121**(7): 2723–2735
- [50] Askarian-Amiri M E, Seyfoddin V, Smart C E, *et al.* Emerging role of long non-coding RNA SOX2OT in SOX2 regulation in breast cancer. *PloS One*, 2014, **9**(7): e102140
- [51] Takaishi S, Okumura T, Tu S, *et al.* Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells*, 2009, **27**(5): 1006–1020
- [52] Wakamatsu Y, Sakamoto N, Oo H Z, *et al.* Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer. *Pathol Int*, 2012, **62**(2): 112–119
- [53] Katoh Y, Katoh M. Hedgehog signaling pathway and gastrointestinal stem cell signaling network (Review). *Int J Mol Med*, 2006, **18**(6): 1019–1023
- [54] Endo H, Shiroki T, Nakagawa T, *et al.* Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer. *PloS One*, 2013, **8**(10): e77070
- [55] Hermann P C, Huber S L, Herrler T, *et al.* Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell*, 2007, **1**(3): 313–323
- [56] Olive K P, Jacobetz M A, Davidson C J, *et al.* Inhibition of hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*, 2009, **324**(5933): 1457–1461
- [57] Jiao F, Hu H, Han T, *et al.* Long noncoding RNA MALAT-1 enhances stem cell-like phenotypes in pancreatic cancer cells. *Int J Mol Sci*, 2015, **16**(4): 6677–6693
- [58] Kogo R, Shimamura T, Mimori K, *et al.* Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res*, 2011, **71**(20): 6320–6326
- [59] Bruno S, Bussolati B, Grange C, *et al.* CD133+ renal progenitor cells contribute to tumor angiogenesis. *Am J Pathol*, 2006, **169**(6): 2223–2235
- [60] Dallas N A, Samuel S, Xia L, *et al.* Endoglin (CD105): a marker of tumor vasculature and potential target for therapy. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2008, **14**(7): 1931–1937
- [61] Dormoy V, Danilin S, Lindner V, *et al.* The sonic hedgehog signaling pathway is reactivated in human renal cell carcinoma and plays orchestral role in tumor growth. *Mol Cancer*, 2009, **8**: 123
- [62] Liu C, Kelnar K, Liu B, *et al.* The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44. *Nat Med*, 2011, **17**(2): 211–215
- [63] Karhadkar S S, Bova G S, Abdallah N, *et al.* Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. *Nature*, 2004, **431**(7009): 707–712
- [64] Crea F, Watahiki A, Quagliata L, *et al.* Identification of a long non-coding RNA as a novel biomarker and potential therapeutic target for metastatic prostate cancer. *Oncotarget*, 2014, **5** (3): 764–774
- [65] Chan K S, Espinosa I, Chao M, *et al.* Identification, molecular characterization, clinical prognosis, and therapeutic targeting of human bladder tumor-initiating cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(33): 14016–14021
- [66] Zhu D, Wan X, Huang H, *et al.* Knockdown of Bmi1 inhibits the stemness properties and tumorigenicity of human bladder cancer stem cell-like side population cells. *Oncol Rep*, 2014, **31**(2): 727–736
- [67] Shin K, Lee J, Guo N, *et al.* Hedgehog/Wnt feedback supports regenerative proliferation of epithelial stem cells in bladder. *Nature*, 2011, **472**(7341): 110–U145
- [68] Organista-Nava J, Gomez-Gomez Y, Gariglio P. Embryonic stem cell-specific signature in cervical cancer. *Tumour Biology: the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 2014, **35**(3): 1727–1738
- [69] Maliekal T T, Bajaj J, Giri V, *et al.* The role of Notch signaling in human cervical cancer: implications for solid tumors. *Oncogene*, 2008, **27**(38): 5110–5114
- [70] Wang Y Z, Krivtsov A V, Sinha A U, *et al.* The Wnt/beta-catenin pathway is required for the development of leukemia stem cells in AML. *Science*, 2010, **327**(5973): 1650–1653
- [71] Zhao C, Chen A, Jamieson C H, *et al.* Hedgehog signalling is essential for maintenance of cancer stem cells in myeloid leukaemia (vol 458, pg 776, 2009). *Nature*, 2009, **460**(7255): 652–652
- [72] Trimarchi T, Bilal E, Ntziachristos P, *et al.* Genome-wide mapping and characterization of Notch-regulated long noncoding RNAs in acute leukemia. *Cell*, 2014, **158**(3): 593–606
- [73] Singh S K, Clarke I D, Terasaki M, *et al.* Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res*, 2003, **63** (18): 5821–5828
- [74] Singh S K, Hawkins C, Clarke I D, *et al.* Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*, 2004, **432**(7015): 396–401
- [75] Prince M E, Sivanandan R, Kaczorowski A, *et al.* Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(3): 973–978
- [76] Fan X, Matsui W, Khaki L, *et al.* Notch pathway inhibition depletes stem-like cells and blocks engraftment in embryonal brain tumors. *Cancer Res*, 2006, **66**(15): 7445–7452
- [77] Bleau A M, Hambarzumyan D, Ozawa T, *et al.* PTEN/PI3K/Akt pathway regulates the side population phenotype and ABCG2 activity in glioma tumor stem-like cells. *Cell Stem Cell*, 2009, **4**(3): 226–235
- [78] Yao Y L, Ma J, Xue Y X, *et al.* Knockdown of long non-coding RNA XIST exerts tumor-suppressive functions in human glioblastoma stem cells by up-regulating miR-152. *Cancer Lett*,

- 2015, **359**(1): 75–86
- [79] Ye J, Wu D, Wu P, *et al.* The cancer stem cell niche: cross talk between cancer stem cells and their microenvironment. *Tumor Biol*, 2014, **35**(5): 3945–3951
- [80] Cabarcas S M, Mathews L A, Farrar W L. The cancer stem cell niche—there goes the neighborhood? *Int J Cancer*, 2011, **129**(10): 2315–2327
- [81] Kitamura T, Qian B Z, Pollard J W. Immune cell promotion of metastasis. *Nat Rev Immunol*, 2015, **15**(2): 73–86
- [82] Broz M L, Binnewies M, Boldajipour B, *et al.* Dissecting the tumor myeloid compartment reveals rare activating antigen-presenting cells critical for T cell immunity (vol 26, pg 638, 2014). *Cancer Cell*, 2014, **26**(6): 938–938
- [83] Chanmee T, Ontong P, Konno K, *et al.* Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers*, 2014, **6**(3): 1670–1690
- [84] Casbon A J, Reynaud D, Park C, *et al.* Invasive breast cancer reprograms early myeloid differentiation in the bone marrow to generate immunosuppressive neutrophils. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(6): E566–E575
- [85] Smith A L, Robin T P, Ford H L. Molecular pathways: targeting the TGF- β pathway for cancer therapy. *Clin Cancer Res*, 2012, **18**(17): 4514–4521
- [86] Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, *et al.* A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell*, 2007, **11**(1): 69–82
- [87] Charles N, Ozawa T, Squatrito M, *et al.* Perivascular nitric oxide activates notch signaling and promotes stem-like character in PDGF-induced glioma cells. *Cell Stem Cell*, 2010, **6**(2): 141–152
- [88] Beck B, Driessens G, Goossens S, *et al.* A vascular niche and a VEGF-Nrp1 loop regulate the initiation and stemness of skin tumours. *Nature*, 2011, **478**(7369): 399–403
- [89] Wei J, Wu A, Kong L Y, *et al.* Hypoxia potentiates glioma-mediated immunosuppression. *PloS One*, 2011, **6**(1): e16195
- [90] Scheel C, Eaton E N, Li S H, *et al.* Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast. *Cell*, 2011, **145**(6): 926–940
- [91] Koshiji M, Kageyama Y, Pete E A, *et al.* HIF-1 α induces cell cycle arrest by functionally counteracting Myc. *EMBO J*, 2004, **23**(9): 1949–1956
- [92] Hjelmeland A B, Wu Q, Heddleston J M, *et al.* Acidic stress promotes a glioma stem cell phenotype. *Cell Death Differ*, 2011, **18**(5): 829–840
- [93] Yachida S, Jones S, Bozic I, *et al.* Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature*, 2010, **467**(7319): 1114–1117
- [94] Liu Y, Cao X. Characteristics and significance of the pre-metastatic Niche. *Cancer Cell*, 2016, **30**(5): 668–681
- [95] Kessenbrock K, Dijkgraaf G J, Lawson D A, *et al.* A role for matrix metalloproteinases in regulating mammary stem cell function *via* the Wnt signaling pathway. *Cell Stem Cell*, 2013, **13**(3): 300–313
- [96] Roorda B D, Elst A, Boer T G, *et al.* Mesenchymal stem cells contribute to tumor cell proliferation by direct cell-cell contact interactions. *Cancer Invest*, 2010, **28**(5): 526–534
- [97] Davis H, Irshad S, Bansal M, *et al.* Aberrant epithelial GREM1 expression initiates colonic tumorigenesis from cells outside the stem cell niche. *Nat Med*, 2015, **21**(1): 62–70
- [98] Cuiiffo B G, Campagne A, Bell G W, *et al.* MSC-regulated microRNAs converge on the transcription factor FOXP2 and promote breast cancer metastasis. *Cell Stem Cell*, 2014, **15**(6): 762–774
- [99] Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2006, **6**(5): 392–401
- [100] Liu S L, Ginestier C, Ou S J, *et al.* Breast cancer stem cells are regulated by mesenchymal stem cells through cytokine networks. *Cancer Res*, 2011, **71**(2): 614–624
- [101] Yi S Y, Hao Y B, Nan K J, *et al.* Cancer stem cells niche: a target for novel cancer therapeutics. *Cancer Treatment Reviews*, 2013, **39**(3): 290–296
- [102] Jaiswal R, Luk F, Dalla P V, *et al.* Breast cancer-derived microparticles display tissue selectivity in the transfer of resistance proteins to cells. *PloS One*, 2013, **8**(4): e61515
- [103] Marusyk A, Almendro V, Polyak K. Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? *Nat Rev Cancer*, 2012, **12**(5): 323–334
- [104] Kreso A, Dick J E. Evolution of the cancer stem cell model. *Cell Stem Cell*, 2014, **14**(3): 275–291
- [105] Li C, Yang Z, Du Y, *et al.* BCMab1, a monoclonal antibody against aberrantly glycosylated integrin $\alpha 3\beta 1$, has potent antitumor activity of bladder cancer *in vivo*. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2014, **20**(15): 4001–4013
- [106] 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
- [107] Yilmaz O H, Valdez R, Theisen B K, *et al.* Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature*, 2006, **441**(7092): 475–482
- [108] Saito Y, Uchida N, Tanaka S, *et al.* Induction of cell cycle entry eliminates human leukemia stem cells in a mouse model of AML. *Nat Biotechnol*, 2010, **28**(3): 275–280
- [109] Kaplan R N, Riba R D, Zacharoulis S, *et al.* VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature*, 2005, **438**(7069): 820–827
- [110] Mitchem J B, Brennan D J, Knolhoff B L, *et al.* Targeting tumor-infiltrating macrophages decreases tumor-initiating cells, relieves immunosuppression, and improves chemotherapeutic responses. *Cancer Res*, 2013, **73**(3): 1128–1141
- [111] Junttila M R, De Sauvage F J. Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response. *Nature*, 2013, **501**(7467): 346–354
- [112] Ni C, Huang J. Dynamic regulation of cancer stem cells and clinical challenges. *Clinical & Translational Oncology: Official Publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*, 2013, **15**(4): 253–258

Cancer Stem Cell Niches and Targeted Interventions*

ZHU Ping-Ping, FAN Zu-Sen**

(The Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Cancer stem cells (CSCs) maintain tumor propagation and heterogeneity due to their capacities of self-renewal and plasticity. Given that the CSCs are responsible for tumor formation, metastasis, drug resistance and relapse, the hypothesis of CSCs has been gradually accepted by more and more tumor researchers. Therefore, it is of great scientific and clinical significance to investigate CSC biology. The CSCs reside in niches (CSC niches), which are part of tumor microenvironments, containing cell-cell contact and secretory factors. Cancer non-stem cells and CSCs themselves also serve as the CSC niches. CSC niches maintain the plasticity of CSCs, protect CSCs from attack by the immune system, and promote tumor metastasis as well. The remodeling of CSC niches by CSCs, the influence of CSC self-renewal by CSC niches, and CSC niche-based targeted interventions emerge as fronts of CSC biology. In this review, we summarize recent progresses on CSC discovery, CSC self-renewal regulation, CSC niches, as well as targeted interventions against CSCs and CSC niches.

Key words cancer stem cells, self-renewal regulation, CSC niche, targeted interventions

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0242

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81330047).

**Corresponding author.

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

Received: June 30, 2017 Accepted: July 4, 2017