

卵巢癌干细胞与化疗的研究进展*

方悦综述,许文林[△]审校(江苏省镇江市第四人民医院中心实验室 212001)

【关键词】 卵巢癌; 肿瘤干细胞; 化疗; 侧群细胞; 表面标志

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.08.046 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)08-1103-02

由于越来越多的证据支持肿瘤干细胞假说,研究者们也开始设想卵巢癌也可能是干细胞失调所致疾病^[1]。已有研究证实,人类卵巢中的一小群细胞具有干细胞样特性,这些细胞与卵巢癌干细胞一样都具有自我更新能力和不定向分化潜能,以及相似的生长调控机制和转移的潜能^[2]。另外,干细胞的寿命相对于普通卵巢癌细胞长,这就使得干细胞有足够长的时间累积致瘤性突变,最终导致正常干细胞的恶性转化。

1 卵巢癌干细胞

近年提出的肿瘤干细胞假说认为,肿瘤组织中存在着一小群具有自我更新和多向分化潜能的细胞,直接导致肿瘤的生长,而其周围的肿瘤细胞的增殖能力却十分有限,这群细胞就是肿瘤干细胞(CSCs)。CSCs 的分裂产生一个具有干细胞特性的子干细胞和一个祖细胞,子干细胞与母细胞的生物学特性和功能都很相似,具有自我更新和增殖的能力,而祖细胞则进一步分化为构成肿瘤主体的各种细胞类型,这种现象被称为不对称分裂。1997 年 Bonnet 和 Dick 在人类急性髓性白血病(AML)中确认并分离出 CSCs。研究发现,只有 CD34⁺ 和 CD38⁻ 表型的细胞亚群有持续的克隆形成能力,将该种细胞接种至重症联合免疫缺陷(SCID)小鼠后能形成 AML,这种细胞即为白血病肿瘤干细胞^[3]。大多数 CSCs 处于 G0/G1 静止期从而逃避化疗药物对增殖活跃细胞的靶向攻击。然而,目前尚未找到方法来控制 CSCs 的增殖。

肿瘤干细胞的证据还来源于一群侧群(SP)细胞的发现。SP 细胞是指一小群可以将脂溶性 DNA 染料排出细胞外的细胞,它们具有干细胞相关特性,该特性可用于表面标志物未知的 CSCs 的分选。利用 SP 分选法已成功在卵巢、血液、肝、前列腺和肾的恶性肿瘤组织中分选出 SP 细胞。Gao 等^[4]从人类卵巢癌细胞株 OVCAR-3 中,分离出 SP 细胞,并测得其占整个肿瘤组织 0.9%。Wang 等^[5]证实,从 OVCAR-3 细胞株中分离出的卵巢癌干细胞表达上皮间质转化(EMT)基因,并对顺铂、拓扑替康和多西紫杉醇耐药。结合临床研究发现,卵巢癌患者的 SP 细胞与预后不良具有相关性,并且 SP 细胞在早期(1~12 个月)复发患者肿瘤细胞内的比例明显多于晚期(13~24 个月)复发的患者^[6]。

SP 细胞分选法已广泛应用于干细胞的分离,但其可靠性有待进一步验证,因此研究人员也一直尝试用已知的干细胞标志来分离干细胞。现已发现的 CSCs 标志有 CD24、CD44、CD117、CD133 等,每个标志专属于特定的干细胞,但分离纯化的细胞亚群却不具有高度同一性。标志的联合检测可能会提高分离出的 CSCs 纯度,但至今尚未尝试。最近有研究者建立出一种非黏性培养系统的模型,并与成球试验相结合来检测 CSCs 的特性^[7]。此外,标记滞留技术也可以用来提取干细胞。干细胞大多数处于静止期,很少分裂,而普通肿瘤细胞中的 DNA 按照遗传物质半保留复制方式进行传代。因此,应用荧

光染料如 BrdU 对肿瘤细胞进行标记,传至 7~10 代后,普通肿瘤细胞的 DNA 将会由于浓度过低而无法测出;然而肿瘤细胞中的永生化 DNA 链发生了不对称分裂,仍有 BrdU 滞留。运用该技术,研究人员已成功在卵巢癌组织和健康组织中提取出干细胞。然而,鉴定 CSCs 的金标准仍然是建立 CSCs 的动物模型,并证实 CSCs 比其他细胞的成瘤性更高。

2 卵巢癌干细胞与化疗

目前卡铂和紫杉醇的联合化疗是针对Ⅲ期卵巢癌患者的一线治疗方案。与静脉用药相比,采用腹腔内化疗的患者肿瘤转移率和病死率明显下降。然而,腹腔内化疗常常引发各种化疗相关并发症,因此卵巢癌化疗的疗效并不理想。紫杉醇在治疗初期的效果不错,但在后续治疗中敏感性逐渐下降。使用某些生物制剂,如干扰素、抗血清 CA125 抗体和放射性抗体进行治疗时,也会出现类似的情况,改进化疗方案能一定程度的提高治疗效果。Perren^[8]的试验结果表明,血管内皮生长因子(VEGF)抑制剂——贝伐单抗可以提高高风险进展患者的无进展生存率。对铂类的耐药与不良预后相关,而脂溶性阿霉素和微管稳定剂——埃坡霉素 B 则用于耐药后的补救性治疗。糖链抗原 125(CA125)对卵巢癌的确诊有一定的临床价值,在临床复发前数月便可以检测出其升高^[9];但 Rustin 等^[10]发现以 CA125 上升为依据来进行化疗的患者,与临床复发时进行化疗的患者相比,在生存率上并没有明显差别。

大多数卵巢癌患者复发的根源可能在于 CSCs。初次化疗后残余的 CSCs 可以在短时间内进行自我更新和多向分化,从而重建癌组织,导致了肿瘤的复发和耐药。Steg 等^[11]报道显示,接受一线化疗后的肿瘤样本,比从肿瘤减灭术中取得的肿瘤组织含有更多的干细胞标志物。Bapat 等^[12]从人腹水来源的卵巢癌细胞中分离得到干细胞样细胞克隆,这些具有成球形的细胞在体外能以安克雷奇-非依赖性方式增殖,并可以在动物模型中连续移植形成与原发肿瘤极其相似的移植瘤。由此认为,CSCs 可能是卵巢癌发生的潜在机制。有研究证实,细胞外基质、肌成纤维细胞、内皮祖细胞等在卵巢癌干细胞周围形成了一个壁龛,保护中心的 CSCs 免受化疗药物的攻击^[13]。

寻找 CSCs 与非 CSCs 之间具有差异性表达的 surface 标志一直是卵巢癌研究的热点。曾有研究发现,在卵巢成体干细胞中不同程度表达的表皮生长因子受体(EGFR)、CD44 和干细胞因子(SCF)等标志物也存在于卵巢癌干细胞中。随后,Ferrandina 等也在卵巢癌干细胞中检测到 CD133 和 CD117 的高表达,并且证实 CD117 的高表达与化疗耐药相关^[14]。Zhang 等^[15]对 400 例卵巢癌患者样本进行检测,发现 CD133 的高表达与化疗耐药、较短的整体存活/无病生存时间之间呈正相关。CD133 的转录受到组蛋白修饰和启动子甲基化的双重控制,在卵巢癌细胞中的表达受到后天修饰的直接调节,推测 CD133 可以用来为卵巢癌起始细胞群分群。醛脱氢酶 1(ALDH1)也

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81070423);江苏省自然科学基金资助项目(BK2010332)。

[△] 通讯作者, E-mail: xwl0806@163.com。

是 CSCs 的表面标志物之一。Deng 等^[16]发现,醛脱氢酶(ALDH1)在卵巢正常组织中表达受限,但在卵巢癌中高表达且与患者的不良预后显著相关,高表达 ALDH1 的卵巢癌细胞具有 CSCs 的特性并对化疗耐药。此外,Peng 等^[17]报道,在胚胎干细胞中表达的 Lin 28 和 Oct 4 也在卵巢癌干细胞中高表达。然而,这些表面标志并不具有特异性,其他组织细胞如前列腺、胰腺和大脑中也可检测到它们的存在。近年来有不少证据提示,CD133 可能是卵巢癌干细胞的特异性标志,但未得到明确证实。迄今为止,还没找到公认的卵巢癌干细胞标志,因此,卵巢癌干细胞对各种化疗药物的敏感性试验很难取得较大进展。

卵巢癌患者对顺铂和紫杉醇的耐药与卵巢癌干细胞密切相关。目前这种耐药的分子机制正被深入研究,但并无切实证据证明 CSCs 直接引起耐药。蛋白激酶 B(PKB/AKT)是一种凋亡抑制相关激酶,在 CSCs 中高表达,可以通过调节 p53 来抗凋亡,并调控顺铂的耐药性。CSCs 细胞膜上的转运蛋白,如 ATPbinding 盒(ABC),可将药物泵出细胞外,是 CSCs 增加化疗耐药性的另一种机制。ABC 家族包括 ABCB1/MDR-1、ABCC 和 ABCG2/BCRP 三种转运体,它们通过将多种肿瘤化疗药物泵出细胞外介导多药耐药(MDR),是耐药形成的关键途径之一。卵巢癌干细胞高表达特异性的转运蛋白 ABCG2 和 MDR1,并激活 TLR4/MyD88 通路,排出包括烟酸己可碱 33342 在内的脂质基质和某些化疗药物,由此导致卵巢癌化疗的多药耐药。Hu 等通过明确的 SP 细胞表面标记,采用流式细胞术从卵巢癌患者腹水及接种人卵巢癌细胞的小鼠致瘤模型腹水中分离出 SP 细胞,发现与耐药相关的三磷酸腺苷结合盒转运体 2(ABEG2)/乳腺癌耐药蛋白 1(BCRP1)蛋白在 SP 细胞中的表达显著高于非 SP 细胞。接种 SP 细胞的异基因小鼠相较于接种非 SP 细胞的小鼠,具有更强的体内成瘤能力。这些证据表明,耐药相关蛋白的高表达是导致卵巢癌耐药和复发的重要原因之一。此外,有研究者利用 RNA 干扰试验证明 Mir-214 能够调节卵巢癌患者对顺铂的耐药性,并且通过小干扰 RNA(siRNA)技术下调与卵巢癌患者预后不良相关癌基因 BMI-1、HER2 的表达后,化疗的敏感性得到显著增加。

3 展 望

肿瘤干细胞是卵巢癌细胞生长分化、耐药和复发的根源,针对卵巢 CSCs 逆转耐药是减少肿瘤复发和改善预后的关键措施。CSCs 的表面标志特异性使得针对该标记开发靶向治疗药物,从源头彻底消灭 CSCs 成为可能。但至今尚未找到公认的卵巢癌干细胞特异性标志,并且卵巢癌 CSCs 与正常卵巢干细胞间存在大量相似的特征,因此如何在靶向杀伤 CSCs 的同时保护正常干细胞不受伤害,仍然需要进一步的研究和探讨。上皮细胞黏附分子是一种在卵巢癌细胞中高表达的细胞表面蛋白,现已将其单克隆抗体用于体外实验和临床研究中。同时也有研究者将生物疗法用于杀灭 CD133⁺癌细胞。有研究从横纹肌肉瘤细胞株分选出 CD133⁺细胞群,并发现其对化疗耐药,但对以单纯疱疹病毒为载体的溶瘤治疗具有敏感性。因此,可采用包括溶瘤病毒在内的治疗措施,靶向杀灭 CD133⁺卵巢肿瘤细胞。另外,化疗药物联合应用,以及促进 CSCs 从静止期进入分化期都可以显著增加 CSCs 对化疗药物的敏感性,逆转耐药。

综上所述,目前越来越多的证据支持卵巢癌干细胞的存在,然而对卵巢癌干细胞在化疗耐药中的作用及其机制的理解还不深入。因此,寻找特异的卵巢癌干细胞表面标志和新的生物治疗靶点,对卵巢癌干细胞的分离、鉴定和生物学特性的研究刻不容缓。

参考文献

[1] Siegel R, Xu J. Cancer statistics[J]. JAMA, 2013, 310(9):

982.

- [2] 董世庆,徐惠成. 卵巢癌的规范化诊治及进展[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(16): 2178-2181.
- [3] Dick JE, Bhatia M, Gan O, et al. Assay of human stem cells by repopulation of NOD/SCID mice[J]. Stem Cells, 1997, 15(Suppl 1): 199-203.
- [4] Gao Q, Geng L, Kvalheim G, et al. Identification of Cancer stem-like side population cells in ovarian Cancer cell line OVCAR-3[J]. Ultrastruct Pathol, 2009, 33(4): 175-181.
- [5] Wang L, Mezencev R, Bowen NJ, et al. Isolation and characterization of stem-like cells from a human ovarian Cancer cell line[J]. Mol Cell Biochem, 2012, 363(1/2): 257-268.
- [6] Vathipadiekal V, Saxena D, Mok SC, et al. Identification of a potential ovarian Cancer stem cell gene expression profile from advanced stage papillary serous ovarian Cancer[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29079.
- [7] Chen SF, Chang YC, Nieh S, et al. Nonadhesive culture system as a model of rapid sphere formation with Cancer stem cell properties[J]. PLoS One, 2012, 7(2): e31864.
- [8] Perren TJ, Swart AM, Pfisterer J, et al. A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian Cancer[J]. N Engl J Med, 2011, 365(26): 2484-2496.
- [9] 窦莉伶. CA125 的检测在临床疾病诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(2): 209-212.
- [10] Rustin GJ. Follow-up with CA125 after primary therapy of advanced ovarian Cancer has major implications for treatment outcome and trial performances and should not be routinely performed[J]. Ann Oncol, 2011, 22(Suppl 8): viii45-viii48.
- [11] Steg AD, Bevis KS, Katre AA, et al. Stem cell pathways contribute to clinical chemoresistance in ovarian Cancer[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(3): 869-881.
- [12] Bapat SA, Mali AM, Koppikar CB, et al. Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian Cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65(8): 3025-3029.
- [13] Steffensen KD, Alvero AB, Yang Y, et al. Prevalence of epithelial ovarian Cancer stem cells correlates with recurrence in early-stage ovarian Cancer[J]. J Oncol, 2011; 620523.
- [14] Luo L, Zeng J, Liang B, et al. Ovarian Cancer cells with the CD117 phenotype are highly tumorigenic and are related to chemotherapy outcome[J]. Exp Mol Pathol, 2011, 91(2): 596-602.
- [15] Zhang J, Guo X, Chang DY, et al. CD133 expression associated with poor prognosis in ovarian Cancer[J]. Mod Pathol, 2012, 25(3): 456-464.
- [16] Deng S, Yang X, Lassus H, et al. Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1(ALDH1), in human epithelial cancers[J]. PLoS One, 2010, 5(4): e10277.
- [17] Peng S, Mailhe NJ, Huang Y. Pluripotency factors Lin28 and Oct4 identify a sub-population of stem cell-like cells in ovarian Cancer[J]. Oncogene, 2010, 29(14): 2153-2159.

(收稿日期: 2013-09-06 修回日期: 2013-11-29)