乳腺肿瘤干细胞的研究进展

许佳慧, 柳素玲*

中国科学技术大学生命科学学院, 合肥微尺度物质科学国家实验室, 中国科学院天然免疫与慢性疾病重点实验室, 合肥 230027

联系人, E-mail: suling@ustc.edu.cn

收稿日期: 2016-10-15; 接受日期: 2016-11-30; 网络版发表日期: 2017-01-19

摘要 越来越多的研究证明, 在乳腺肿瘤中存在一小部分具有自我更新和分化能力的细胞, 称之为乳腺肿瘤干细胞, 它们在乳腺肿瘤的发生发展和迁移中起到关键作用. 乳腺肿瘤干细胞的特性受到一系列细胞内、外因子的调控, 包括重要的信号通路、转录因子、非编码RNA和细胞因子, 如Hedgehog, Wnt, Notch, Bmi-1, microRNA93, microRNA100和IL6等, 均在调控乳腺肿瘤干细胞中起重要作用. 另外, 肿瘤微环境中的非肿瘤细胞和非细胞成分也是调控乳腺肿瘤干细胞的一个重要因素, 如间充质干细胞、巨噬细胞以及细胞因子等. 由于乳腺肿瘤干细胞对传统放化疗的不敏感性, 结合靶向乳腺肿瘤干细胞的治疗才能更有效地消灭肿瘤. 本文就关于乳腺肿瘤干细胞的调控研究及靶向乳腺肿瘤干细胞治疗进行简要综述.

关键词 乳腺癌, 肿瘤干细胞, 靶向治疗

乳腺癌是一类乳腺上皮细胞恶性增生导致的恶性肿瘤, 由于其近年来越来越高的发病率和死亡率, 乳腺癌已经成为威胁女性健康的头号癌症杀手. 虽然随着诊断技术的提高和一些相关靶向药物的出现, 乳腺癌的治疗得到了一定的改善, 但是由于治疗产生的耐药性、癌症复发及转移等问题, 仍是目前乳腺癌治疗的难点. 肿瘤干细胞理论认为, 肿瘤干细胞在启动癌症形成和生长中发挥着决定性的作用, 是导致癌症复发、转移及化疗耐药的根源.

1 乳腺肿瘤干细胞的发现、分离和纯化

包括乳腺癌在内的许多癌组织内存在一小部分致瘤能力特别强、分化程度极低的细胞, 并且具有干细胞的自我更新及多向分化特性, 称为“肿瘤干细

胞”(cancer stem cells, CSCs). 肿瘤干细胞的分离鉴定是进行肿瘤干细胞研究的关键前提. 自从Bonnet和Dick^[1]在急性髓性白血病细胞中鉴定出具有起始肿瘤生长能力的CD34⁺/CD38⁻细胞, 为肿瘤干细胞的存在提供了确凿证据后, 研究者们又陆续在其他多种肿瘤中鉴定出了肿瘤干细胞, 而Al-Hajj等人^[2]则首次在乳腺肿瘤中鉴定出了实体瘤的肿瘤干细胞.

利用慢病毒载体介导的RNA干扰或基因过表达以及通过体外悬浮培养中球囊培养(sphere forming assay)和NOD/SCID小鼠(*Mus musculus*)模型来研究乳腺干细胞的自我更新和分化是目前被干细胞研究者广泛采用的一种方法体系^[3]. 由于肿瘤具有异质性, 不同的肿瘤具有不同的表型和功能, 即使是在同一个肿瘤内部, 不同的细胞间也可能具有不同的表型和功能, 这一点在乳腺肿瘤中表现尤为明显. 乳腺肿瘤是由许多不同表

引用格式: 许佳慧, 柳素玲. 乳腺肿瘤干细胞的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 140-144

Xu J H, Liu S L. Research progress in breast cancer stem cells. Sci Sin Vitae, 2017, 47: 140-144, doi: [10.1360/N052016-00340](https://doi.org/10.1360/N052016-00340)

型的乳腺肿瘤细胞所组成的. 根据细胞表面分子表达的不同, Al-Hajj等人^[2]分离出了多个细胞群, 并利用免疫缺陷小鼠鉴定出了具有起始肿瘤生长能力的细胞群为 $CD44^+CD24^{-/low}$ Lineage⁻表型的细胞. 而后Ginestier等人^[4]和Liu等人^[5]又从乳腺肿瘤中分离并鉴定ALDH⁺细胞具有肿瘤干细胞特性, 表明了肿瘤干细胞中也存在着异质性. 而近年发现乳腺肿瘤干细胞(breast cancer stem cells, BCSCs)与一种重要的肿瘤过程——上皮间充质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)间存在密切关系. 研究发现, 乳腺肿瘤干细胞存在至少2种表型和功能不同的状态——上皮样状态(epithelial-like state)和间充质样状态(mesenchymal-like state)(图1). 上皮样状态的BCSCs主要为ALDH⁺细胞, 分布于肿瘤的中心区域, 处于增殖相对活跃状态, 可以进行快速增殖和自我更新, 从而产生新的肿瘤块; 而间充质样状态的BCSCs则主要为 $CD44^+CD24^-$ 细胞, 分布于肿瘤的边缘区域, 处于增殖静息状态, 但是具有很强的侵袭能力, 可以进入血管随血液转移至远端器官, 一旦到达远端器官, 这些干细胞就会转化成上皮样状态的干细胞, 促使肿瘤细胞在远端器官快速增殖, 不同状态间的转换在肿瘤生长和迁移过程中起着关键作用^[5], 并且这种转换可能受到多种不同信号的调控. 这些探索发现给进一步纯化乳腺肿瘤干细胞以及如何更精准地靶向肿瘤干细胞提出了新思路.

2 调控乳腺肿瘤和肿瘤干细胞的重要信号通路和转录因子

肿瘤干细胞的重要特性是具有自我更新和分化的能力, 而这一能力在正常干细胞中是受严格调控的, 自我更新的失调可能是肿瘤发生的关键原因之一. 近年来越来越多研究表明, 一些参与正常干细胞自我更新过程的信号传导途径和转录因子的异常跟癌变密切

相关, 主要包括Hh(Hedgehog), Wnt, Notch信号通路和Bmi-1等转录因子, 靶向这些重要通路和转录因子是哺乳动物中存在有3种分泌型Hh受体: Shh(Sonic Hedgehog), Dhh(Desert Hedgehog)和Ihh(Indian Hedgehog), 它们与其配体Hip1和Ptch的结合导致转录因子Gli的激活, 从而入核调控靶基因的转录^[6]. 早期研究认为, Hh信号通路主要影响果蝇(*Drosophila melanogaster*)的胚胎发育, 而近年的研究发现Hh信号在调控细胞增殖、决定细胞命运以及维持干细胞/祖细胞干性中其重要作用^[7,8]. 研究发现, 乳腺干细胞具有很高的Hh信号通路相关蛋白的表达, Hh信号通过转录因子Bmi-1调控乳腺干细胞的自我更新. 而且进一步研究发现该过程的失调与肿瘤发生密切相关. $CD44^+CD24^-$ 乳腺肿瘤干细胞相对于普通肿瘤细胞具有很高的Ptch1, Gli1和Gli2表达, 而且过表达Gli1/Gli2或利用配体激活Hh信号通路能够促进微球的形成和生长, 相反的, 利用环巴胺(cyclopamine)抑制该信号通路则降低了肿瘤细胞的成瘤能力, 表明了Hh信号在乳腺癌变过程中的重要作用^[3].

Wnt配体也是一类分泌型的糖蛋白, 根据配体的不同, 其与膜受体的激活可以激活经典的Wnt信号通路或者非经典的Wnt信号通路. 在经典的Wnt信号通路中, 配体结合会导致细胞质中的 β -catenin入核结合并激活转录因子T细胞因子/淋巴样增强子(TCF/LEF), TCF/LEF的激活导致一系列基因的转录激活^[9], 其中包括一些癌基因, 如*c-Myc*^[10]. 而非经典Wnt信号通路则主要是通过Rho家族小GTP酶、钙离子和蛋白激酶A信号来发挥作用^[11]. 大量实验证明, 许多肿瘤中都有Wnt信号通路成分的活化^[12,13]. 利用乳腺特异表达*Wnt-1*的转基因小鼠模型研究发现, Wnt信号通路在诱导乳腺干细胞或者祖细胞恶性转变导致癌症发生的过程中起重要作用^[14]. 此外, 有研究指出, 在恶性程度高的三阴性乳腺癌中, Wnt/ β -catenin信号通路呈现明显的上调现象, 而且这种上调与肿瘤的迁移表型密切相关^[15], 表明Wnt信号通路也在乳腺癌的发生发展中具有重要作用.

在多种正常组织中, Notch信号通路与细胞命运调控息息相关. 哺乳动物中存在4种Notch受体, 分别为Notch1, Notch2, Notch3, Notch4, 当Notch配体(Delta-like 1, 3, 4, Jagged1和Jagged2)结合受体时, 受体经包括 γ -分泌酶在内的多种酶剪切后产生胞内段

图1 乳腺肿瘤干细胞的异质性

(intracellular domain, ICD), ICD进入核激活靶基因的表达^[16]. 由于Notch信号与干细胞干性维持、细胞命运决定以及细胞分化调控密切相关, Notch信号的紊乱在多种人类恶性肿瘤的发生发展中起重要作用^[17]. 在乳腺肿瘤中, Notch信号存在异常的活化状态^[18]. 研究已发现Notch信号在肿瘤发生发展过程中参与肿瘤干细胞及其EMT过程的调控^[19]. Notch信号可以诱导ALDH1A1的去乙酰化从而促进ALDH⁺乳腺肿瘤干细胞^[20]. 此外, 在接受TCRC1/2抑制剂治疗的三阴性乳腺癌病人中, Notch信号也起着维持肿瘤干细胞干性的作用, 从而导致了药物治疗抗性^[21]. 值得一提的是, 目前关于Notch的研究主要是集中在Notch1上, 然而Notch受体在不同肿瘤中的表达差异暗示, 不同的Notch受体所发挥的功能可能有所不同, 进一步的验证还有待进行.

3 非编码RNA参与对乳腺肿瘤和肿瘤干细胞调控

非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)是一类不翻译成蛋白质但是具有功能活性的RNA分子, 随着近几十年大量ncRNA的发现, 越来越多的研究显示ncRNA在肿瘤的发生发展和肿瘤干细胞的维持中具有重要作用, 尤其是小RNA(microRNA, miRNA)和长非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA), 其作为潜在的治疗靶点受到了大量的关注.

miRNA是一类由19~23 aa组成的非编码RNA, 主要通过转录后调控和基因沉默起作用. 越来越多的研究表明miRNA不仅可以调控癌症的生成, 还能调控肿瘤干细胞的自我更新和分化以及不同状态的转换(图2). 利用miRNA芯片比较分析及相关研究发现, miRNA93可以调节乳腺肿瘤干细胞的增殖和分化, 并且microRNA93可以促进间充质样细胞转化成上皮样细胞, 从而增加其对化疗药物的敏感性^[22]. 与此相反的是miRNA100在上皮样细胞中具有高表达, 可以通过抑制一些干细胞调控基因(如SMARCA5, SMARCD1和BMP2等)的表达从而抑制乳腺肿瘤干细胞的生成^[23]. 这些研究表明了miRNA在调控乳腺肿瘤干细胞的自我更新和分化中起着至关重要的作用, 为针对乳腺肿瘤干细胞的治疗提供了新的靶点.

4 肿瘤微环境对乳腺肿瘤和肿瘤干细胞起着重要的调控作用

肿瘤微环境中存在着大量的非肿瘤细胞如间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)、免疫细胞、基质细胞等, 这些细胞或通过分泌特定细胞因子或通过直接接触作用, 在肿瘤的发生、发展和转移中起到关键性的作用. 本研究组已发现, 微环境中的细胞因子IL8, IL6等都对乳腺肿瘤干细胞具有调控作用(图3). 其中, IL8通路对乳腺肿瘤干细胞的自我更新起着很重要的作用, 由于化疗药物只能杀死普通肿瘤细胞并且大量的IL8会从这些凋亡的普通肿瘤细胞中释放出来, 从而通过IL8-CXCR1通路激活了肿瘤干细胞的自我更新和再生, 导致癌症进一步恶化^[24]. 而且, 骨髓间充质干细胞在IL6的诱导下可以分泌更多的IL8和IL6等细胞因子, 并且从骨髓迁移到乳腺原位癌部位促进肿瘤干细胞自我更新和原位癌的生长^[25]. 这些结果表

图2 参与肿瘤干细胞调控的重要非编码RNA

图3 间充质干细胞通过细胞因子IL6-CXCL7网络调控乳腺肿瘤干细胞

明, 乳腺肿瘤微环境可以通过一些免疫反应相关的细胞因子对乳腺肿瘤干细胞的调控起到不可忽视的作用, 为肿瘤干细胞的靶向治疗提供了一个新方向, 即通过干扰肿瘤微环境与癌组织的相互关联, 例如, 阻断IL8和IL6信号传导等, 从而有效降低肿瘤干细胞, 抑制癌症尤其是恶性程度比较高的三阴性乳腺癌的生长和转移。

5 展望

根据肿瘤干细胞理论, 传统的放化疗只能杀死普通肿瘤细胞而不能杀死肿瘤干细胞, 从而富集了乳腺肿瘤干细胞, 乳腺肿瘤干细胞的存在是乳腺肿瘤细胞耐药性以及肿瘤复发的原因。因此传统治疗结合靶向乳腺肿瘤干细胞的治疗才能有效地抑制肿瘤达到治愈的目的。目前的研究已经发现了

CD44⁺CD24⁻, ALDH⁺等作为乳腺肿瘤干细胞的标志, 可以有效地富集乳腺肿瘤干细胞, 但是为了更有针对性地研究乳腺肿瘤干细胞, 仍需要找到更为精准的干细胞标记分子。

乳腺肿瘤干细胞的特性受到多种胞内和胞外因素的影响。靶向调控乳腺肿瘤干细胞的重要信号通路(如Hedgehog, Wnt, Notch等)、非编码RNA(如miRNA100等)或干预肿瘤微环境可以有效地抑制肿瘤以及肿瘤干细胞的生长。但是, 由于乳腺肿瘤细胞及肿瘤干细胞中存在至少上皮样和间充质样两种状态, 不同的因子调控着不同状态的干细胞, 并且在某些因子作用下两种状态之间可以相互转化。因此, 为了达到更全面有效的靶向肿瘤干细胞治疗, 需要对这两种状态及其相互转化机制进行全面的了解, 以便找到更好的联合治疗方案。

参考文献

- 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: 730–737
- 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: 3983–3988
- Liu S, Dontu G, Mantle I D, et al. Hedgehog signaling and Bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells. *Cancer Res*, 2006, 66: 6063–6071
- 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: 555–567
- Liu S, Cong Y, Wang D, et al. Breast cancer stem cells transition between epithelial and mesenchymal states reflective of their normal counterparts. *Stem Cell Rep*, 2014, 2: 78–91
- Lewis M T, Veltmaat J M. Next stop, the twilight zone: hedgehog network regulation of mammary gland development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2004, 9: 165–181
- Pasca di Magliano M, Hebrok M. Hedgehog signalling in cancer formation and maintenance. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 903–911
- Cohen M M Jr. The hedgehog signaling network. *Am J Med Genet*, 2003, 123A: 5–28
- 苏尚, 吴畏. Wnt/b-catenin信号通路对靶基因转录的调控. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44: 1029–1042
- Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8: 387–398
- Veeman M T, Axelrod J D, Moon R T. A second canon. *Dev Cell*, 2003, 5: 367–377
- Bafico A, Liu G, Goldin L, et al. An autocrine mechanism for constitutive Wnt pathway activation in human cancer cells. *Cancer Cell*, 2004, 6: 497–506
- Nakopoulou L, Mylonas E, Papadaki I, et al. Study of phospho- β -catenin subcellular distribution in invasive breast carcinomas in relation to their phenotype and the clinical outcome. *Mod Pathol*, 2006, 19: 556–563
- Li Y, Welm B, Podsypanina K, et al. Evidence that transgenes encoding components of the Wnt signaling pathway preferentially induce mammary cancers from progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 15853–15858
- Dey N, Barwick B G, Moreno C S, et al. Wnt signaling in triple negative breast cancer is associated with metastasis. *BMC Cancer*, 2013, 13: 537
- Chiba S. Notch signaling in stem cell systems. *Stem Cells*, 2006, 24: 2437–2447
- Roy M, Pear W S, Aster J C. The multifaceted role of Notch in cancer. *Curr Opin Genets Dev*, 2007, 17: 52–59
- Stylianou S, Clarke R B, Brennan K. Aberrant activation of notch signaling in human breast cancer. *Cancer Res*, 2006, 66: 1517–1525

- 19 Miele L, Espinoza I, Pochampally I, et al. Notch signaling: targeting cancer stem cells and epithelial-to-mesenchymal transition. *Onco Targets Ther*, 2013, 6: 1249
- 20 Zhao D, Mo Y, Li M T, et al. NOTCH-induced aldehyde dehydrogenase 1A1 deacetylation promotes breast cancer stem cells. *J Clin Invest*, 2014, 124: 5453–5465
- 21 Bhola N E, Jansen V M, Koch J P, et al. Treatment of triple-negative breast cancer with TORC1/2 inhibitors sustains a drug-resistant and notch-dependent cancer stem cell population. *Cancer Res*, 2016, 76: 440–452
- 22 Liu S, Patel S H, Ginestier C, et al. MicroRNA93 regulates proliferation and differentiation of normal and malignant breast stem cells. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1002751
- 23 Deng L, Shang L, Bai S, et al. MicroRNA100 inhibits self-renewal of breast cancer stem-like cells and breast tumor development. *Cancer Res*, 2014, 74: 6648–6660
- 24 Ginestier C, Liu S, Diebel M E, et al. CXCR1 blockade selectively targets human breast cancer stem cells *in vitro* and in xenografts. *J Clin Invest*, 2010, 120: 485–497
- 25 Liu S, Ginestier C, Ou S J, et al. Breast cancer stem cells are regulated by mesenchymal stem cells through cytokine networks. *Cancer Res*, 2011, 71: 614–624

Research progress in breast cancer stem cells

XU JiaHui & LIU SuLing

*CAS Key Laboratory of Innate Immunity and Chronic Disease, Hefei National Laboratory for Physical Sciences at the Microscale,
School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China*

Many studies have shown that a small fraction of cells inside breast tumors possess the ability of self-renewal and differentiation; these cells are called breast cancer stem cells (BCSCs) and play a vital role in tumor progression and metastasis. The characteristics of BCSCs are regulated by multiple intracellular and extracellular factors, including some important signaling pathways (e.g., sonic hedgehog, Wnt, and Notch), transcription factors (e.g., Bmi-1), noncoding RNAs (e.g., *miR-93* and *miR-100*), and cytokines (e.g., interleukin-6). In addition, the tumor microenvironment, including nontumor cells (e.g., mesenchymal stem cells and macrophages) and noncellular components (e.g., cytokines), is also a key factor regulating BCSCs. Because BCSCs are resistant to conventional therapies, these therapies may be more efficacious when used in combination with BCSC-targeted therapies. In this review, we focus on recent research progress regarding the regulation of BCSCs and BCSC-targeted therapies.

breast cancer, cancer stem cell, targeting therapies

doi: [10.1360/N052016-00340](https://doi.org/10.1360/N052016-00340)