



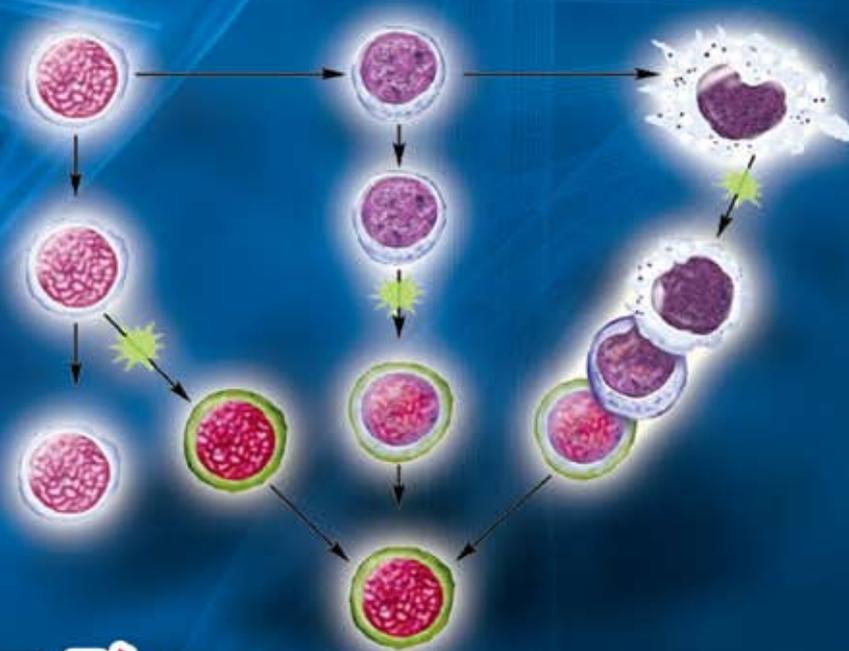
[www.LifeOmics.com](http://www.LifeOmics.com)

[www.LifeOmics.com](http://www.LifeOmics.com)

# 生命奥秘

2012年 10月刊  
总第49期

## LifeOmics



## 肿瘤干细胞

## ——肿瘤治疗的新希望？

记“另类”的肿瘤遗传学家 Bert Vogelstein

国际贸易间接影响生物多样性



无奇不有

生命世界

解读生命

走进科学



# 目录 | CONTENTS

## 专题

### 肿瘤干细胞——肿瘤治疗的新希望？

#### 前言

一、肿瘤干细胞简介 .....	02
1. 肿瘤干细胞的发现 .....	02
2. 肿瘤干细胞起源假说 .....	03
3. 肿瘤干细胞模型与肿瘤异质性 .....	04
二、肿瘤干细胞生物学特征和表面标记 .....	07
1. 肿瘤干细胞的生物学特性 .....	07
2. 正常干细胞与肿瘤干细胞的异同 .....	08
3. 肿瘤干细胞表面标记 .....	09
三、肿瘤干细胞信号通路 .....	10
1. Wnt/ $\beta$ -catenin通路 .....	10
2. Hedgehog通路 .....	11
3. Notch 通路 .....	13
4. 其它通路 .....	15
5. 小结 .....	16
四、肿瘤干细胞与肿瘤耐药性和肿瘤转移 .....	18
1. 肿瘤干细胞的耐药机制 .....	18
2. 肿瘤干细胞与肿瘤转移 .....	19
3. EMT与肿瘤转移 .....	19
4. 肿瘤干细胞微环境 (niche) .....	20
五、肿瘤干细胞在肿瘤治疗中的研究现状 .....	21
1. 靶向治疗 .....	21
2. 靶向Wnt/ $\beta$ -catenin通路治疗肿瘤干细胞 .....	22
3. 靶向Hedgehog通路治疗肿瘤干细胞 .....	24
4. 靶向Notch通路治疗肿瘤干细胞 .....	26
5. 其它治疗策略 .....	28
6. 靶向肿瘤干细胞的上市药物与潜力分子 .....	29
六、展望 .....	32

#### 下一期（2012年11月刊）预告：糖尿病研究进展概述

随着全球老龄化人口的增多，城市化进程的加快以及生活方式的改变，糖尿病在全球的发病率也在逐年攀升。过去的30年里，全世界糖尿病患者的人数已经翻了一倍多。据估计，2010年全球糖尿病患者人数已经超过了2.85亿，其中90%的患者都是2型糖尿病患者。在2012年11月14日“世界糖尿病日”即将来临之际，《生命奥秘》将带领你了解全球糖尿病的流行现状、探讨疾病机理、了解疾病的重要研究进展及预防方法，希望能起到抛砖引玉的作用，让更多人关注糖尿病、警惕糖尿病。

## 热点

记“另类”的肿瘤遗传学家Bert Vogelstein .....	35
-----------------------------------	----

## 百态

国际贸易间接影响生物多样性 .....	43
为何纤瘦的蚂蚁听命于集体的食欲 .....	47

本刊文章主要由国外网站文章编译而成，如有版权问题，请版权所有人与本刊联系。  
凡本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处“生命奥秘”。  
本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

# 肿瘤干细胞 ——肿瘤治疗的新希望？

特约编辑：汪文静，女，博士，研究方向：靶向肿瘤药物设计

## 前言

肿瘤是威胁人类健康的重大疾病，目前针对肿瘤的治疗主要有手术、放疗、化疗以及生物治疗等手段。随着时间的推移，虽然治疗手段和可用药物越来越多，但是仍然是目前最难以治愈的疾病之一。即便针对某一特定肿瘤有有效的治疗手段，治疗过程中所产生的副作用往往也非常严重，而且还会降低患者的生活质量，尤其是晚期的病人。

肿瘤难以根治的原因有很多，传统的化疗多是细胞毒性药物，无明显靶向性，因此毒性大，且易产生耐药；新一代的靶向治疗药物又存在着副作用大，耐药产生快，无法完全清除肿瘤细胞等缺点。同时，肿瘤转移与肿瘤复发使得治疗变得更加困难。肿瘤转移使得肿瘤不只停留在身体的一个部分，以致于治疗时容易产生遗漏，这些遗漏的肿瘤细胞很可能在其它组织形成新的肿瘤。肿瘤复发则是指肿瘤病人经过各种有效治疗后得到痊愈或临床治愈，然而经过一段时间之后，被治愈的肿瘤又重新复发。复发的原因很可能是在上一次治疗过程中没有完全清除，导致肿瘤细胞残余并形成新的肿瘤。

目前，科学家提出了肿瘤干细胞（cancer stem cells）这一概念，其与肿瘤治疗息息相关，尤其涉及肿瘤转移与肿瘤复发。目前认为，肿瘤具有异质性，其中只有肿瘤干细胞才具有强致瘤性、高侵袭性。肿瘤转移后要形成新的肿瘤必须有肿瘤干细胞的参与，且肿瘤干细胞比普通肿瘤细胞更易产生耐药从而能躲过化疗药物，即使是很少的肿瘤干细胞也能形成新的肿瘤，因此如果不能完全清除体内的肿瘤干细胞，肿瘤就几乎不可能治愈。肿瘤干细胞是目前国际上肿瘤研究的热点，不断有新的发现被报道，为肿瘤治疗带来了希望，本专题将就这一新概念及其当前研究现状进行介绍。

# 一、肿瘤干细胞简介

肿瘤的起因至今还没完全弄清楚。一般来说，肿瘤发生被认为是内在遗传物质与外在环境相互作用的结果。例如，在细胞生长过程中，DNA发生突变导致原癌基因激活。传统观念认为，所有的细胞都有可能积累这种突变从而形成肿瘤，但是这样的认识目前正在改变，肿瘤干细胞学说逐渐为科学家所接受。肿瘤干细胞（tumor stem cells, TSCs），或称癌干细胞（cancer stem cells, CSCs）、肿瘤启动细胞（tumor initiative cells, TICs）是肿瘤中的一小部分细胞，这类细胞具有形成并维持肿瘤生长和异质性的能力。本文第一部分将对肿瘤干细胞的发现、定义以及起源假说等做一个简单介绍。

## 1. 肿瘤干细胞的发现

肿瘤干细胞并不是一个全新的概念。最早将干细胞与肿瘤联系在一起是在19世纪，那时科学家发现肿瘤与胚胎在组织学上具有很高的相似性，由此便产生了“embryonal rest”假说，即胚胎残余假说。这个假说认为，肿瘤是由一些与早期胚胎细胞性质相似的细胞导致的。经过漫长的研究，直到1983年，Mackillop等人才首次提出了肿瘤干细胞假说。该假说认为肿瘤中存在着一小部分具有类似干细胞功能的细胞。1997年，Bonnet等人第一次在急性髓性白血病（acute myeloid leukaemia, AML）中分离出了一种表面标记为CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>的细胞，这些细胞约占AML细胞总数的0.2%。将这种细胞移植至非肥胖型糖尿病/重症联合免疫缺陷小鼠（NOD/SCID）体内会引起AML的发生；而将其它的AML细胞移植入NOD/SCID小鼠体内，即使采用更大数量的细胞也不会引起AML的发生。这样的结果表明，这类表面标记为CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>的细胞具有普通肿瘤细胞不具备的致瘤性，且这类细胞的表面抗原标记与正常的造血干细胞类似，很可能是肿瘤干细胞。在此之后，研究人员在乳腺癌、中枢神经系统癌症、结肠癌、前列腺癌、胰腺癌、肝癌、卵巢癌、尤文氏肉瘤以及黑色素瘤等实体瘤中也鉴定出了肿瘤干细胞的存在，进一步证实了肿瘤干细胞假说，并逐步建立了肿瘤的肿瘤干细胞模型。

然而目前对肿瘤干细胞还没有一个准确定义，在今年2月份的《自然综述—肿瘤》（*Nature Review Cancer*）杂志上，Nguyen等人做出了以下定义：肿瘤干细胞是指具有恶性增殖能力的、能促进肿瘤生长的细胞群，若要彻底治愈肿瘤，必须清除这类细胞。这个定义表明，并非所有具有恶性增殖能力的细胞都属于肿瘤干细胞；但是，所有具有恶性增殖能力的细胞都来源于肿瘤干细胞，包括肿瘤组织中那些并不具有恶性增殖能力的细胞。值得注意的是，这个定义并没有表明肿瘤的发生起源于肿瘤干细胞或肿瘤的恶性首先是由肿瘤干细胞表现出来的。也就是说，这一定义也没有明确表明肿瘤的起源。当然，这一概念并非权威，还需要不断的实验和探索来完善。在最近的研究中，肿瘤干细胞的存在已经被证实。这得益于今年8月份发表于《自然》（*Nature*）与《科学》（*Science*）上的三篇文章。这三篇文章分别由来自世界不同地方的科研团队发表。研究中虽然采用不同的肿瘤，但都证明了同样的一个事实：肿瘤干细胞是确定存在的，这些肿瘤干细胞可以驱动肿瘤的生长。

美国达拉斯市得克萨斯大学西南医学中心（UTSMC）的科学家Luis Parada等人在研究中标记了健康成人神经干细胞的一个遗传标记，这个标记同时可作为神经母细胞瘤中的癌症干细胞的标记。在实验中，所有神经母细胞瘤样本中都发现有几个经过标记的细胞可以被初步认定为干细胞，未标记细胞可被标准化疗杀死，但肿瘤可迅速恢复。进一步的研究发现，在生有神经胶质瘤的小鼠中，肿瘤的生长似乎来源于标记细胞。他们还发现，这些细胞能够在消灭大部分癌症的化疗过程中保持休眠状态，一旦药物治疗停止，便能引发新的肿瘤。这一研究成果被刊登在《自然》（*Nature*）杂志上。

另一篇同样发表在《自然》（*Nature*）杂志上的类似研究来自比利时布鲁塞尔自由大学的干细胞研究人员Cédric Blanpain等人。他们在研究中采用的是鳞状皮肤肿瘤（squamous skin tumours）。研究人员希望通过标记单个肿瘤细胞并追踪其在肿瘤发生、发展的各个阶段的表现来研究肿瘤的发生、发展。通过实验发现，在小鼠良性的乳头状瘤中，大部分的肿瘤细胞都只具有有限的增殖潜能，只有一小部分细胞具有长期的增殖能力并对肿瘤的生长起着至关重要的作用。另一项研究则将目标对准了肠道肿瘤。荷兰乌得勒支Hubrecht研究所的干细胞生物学家们利用药物驱动的荧光素标志物表达系统证实，多种不同类型的肿瘤细胞其实都是来源于同一干细胞。而且，这些干细胞是肿瘤发展的驱动力。这项研究由《科学》（*Science*）刊登。

肿瘤干细胞的确认为我们将来的研究带来了信心。

## 2. 肿瘤干细胞起源假说

那么，肿瘤干细胞来源于何种细胞呢？目前对肿瘤干细胞的起源问题仍存在争议，总的来说，目前有三种肿瘤干细胞起源假说（图1）。

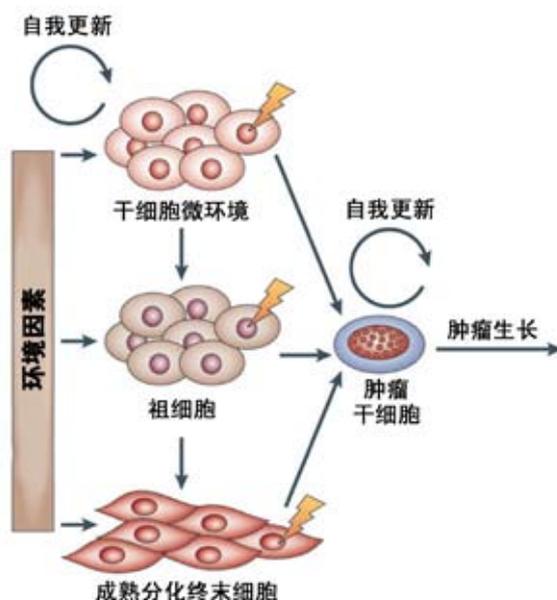


图1 肿瘤干细胞起源假说。

图片来源：Bjerkvig, R., B. B. Tysnes, et al. (2005) The origin of the cancer stem cell: current controversies and new insights. *Nature Reviews Cancer*, 5(11): 899-904.

### 2.1 肿瘤干细胞源自正常成体干细胞 (normal stem cells, NSCs)

这一假说认为，这些正常干细胞发生突变并最终导致NSCs正常的更新分化调控机制过度激活，进而转化为恶性的肿瘤干细胞。支持这一理论的证据很多，肿瘤干细胞与NSCs有许多相似的特性，有着相似的自我更新能力并分享同样的信号通路，如两者具有相同的细胞增殖调控通路。若NSCs长期处于致癌微环境下，DNA损伤修复无法有效完成，关键基因的异常激活或失活，以及信号通路的失调，都有可能引起肿瘤干细胞的产生。例如，Bonnet和Blair等人的研究表明，当标记为CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> Thy-1<sup>+</sup> c-Kit<sup>+</sup> IL-3R $\alpha$ <sup>-</sup>的初始造血干细胞的Thy-1(CD90)丢失，会使造血干细胞转化为恶性的肿瘤干细胞，从而引起白血病。

### 2.2 肿瘤干细胞源自祖细胞 (progenitor cells)

这一假说认为，祖细胞在分化过程中发生突变、获得自我更新能力并终止分化，转化为肿瘤干细胞。同时也有不少证据认为肿瘤干细胞来源于分化程度比较低的祖细胞，如少突胶质祖细胞 (oligodendroglial progenitor) 受胞外信号诱导后可以获得干细胞样特性，引起染色质重组和SOX2的重新激活进而转化为肿瘤干细胞。

### 2.3 肿瘤干细胞源自成熟终末分化细胞 (differentiated cells)

这一假说认为，有些成熟细胞可以通过突变获得自我更新和分化的能力，进而形成肿瘤干细胞。2006年，诱导多潜能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPS cells) 的发现使科学家认识到，从成熟的终末分化细胞转化为干细胞是可能的，同时也提示了，由成熟的终末分化细胞转化为肿瘤干细胞是可能的。除此之外，有证据表示，敲除成熟神经胶质细胞中的细胞周期调控基因InK-4a-Arf，并同时下调EGF受体，可能产生胶质瘤。

这三种理论都有相应的实验证据支持，其中支持肿瘤干细胞源自NSCs的证据最多。但是同样也不能否认其他可能。因此关于肿瘤干细胞的起源还需要更深入的研究，寻找更多的证据。

## 3. 肿瘤干细胞模型与肿瘤异质性

在继续介绍肿瘤干细胞之前，我们需要对肿瘤有一个简单的认识。肿瘤组织中拥有多种形态和功能皆不同的细胞，这种现象被称为肿瘤异质性 (heterogeneity)。肿瘤异质性的成因很多，可能是细胞内在的固有因素，如基因或表观遗传的改变；或者是外部环境的变化；也可能是由于肿瘤组织内不同位置的微环境不同，赋予肿瘤细胞形态和功能的差异。而对于上面提到的符合肿瘤干细胞模型的肿瘤来说，其异质性很可能来源于肿瘤干细胞分化。

目前有两种较易令人接受的肿瘤干细胞分化模型，即分层 (hierarchy) 模型和随机 (stochastic) 模型 (图2)。

分层模型认为，肿瘤干细胞是所有肿瘤细胞中具有明显特征的一小部分细胞，具有干细胞潜能，即永久增殖和自我更新的能力。在这种模型下，细胞是否具有无限增殖潜能是由细胞内在因素决定的，普通肿瘤细胞不可能逆分化成肿瘤干细胞。但是肿瘤干细胞的存活、生长和分化，可能依赖于外界条件的刺激。在临床上，分层模型意味着只要消灭所有肿瘤干细胞，就一定可以阻止肿瘤的生长；否则，肿瘤将会复发。

随机模型则认为所有的肿瘤细胞都有可能是潜在的肿瘤干细胞，而肿瘤细胞行为的多样性至少部分取决于其内在的随机因素。也就是说细胞的行为不完全取决于细胞所处的环境。在实验中，如果肿瘤干细胞数量很少，而且增殖能力比较弱，那么随机模型和分层模型表现得很相似，因为在每一个时间都只有一部分细胞具有干细胞活性。若要区分这两种模型，需要在细胞连续培养时使用克隆追踪的方法，以展示肿瘤干细胞的行为是否随机分布。

但是，需要注意的是，目前对于这两种模型的看法仍然有争论。

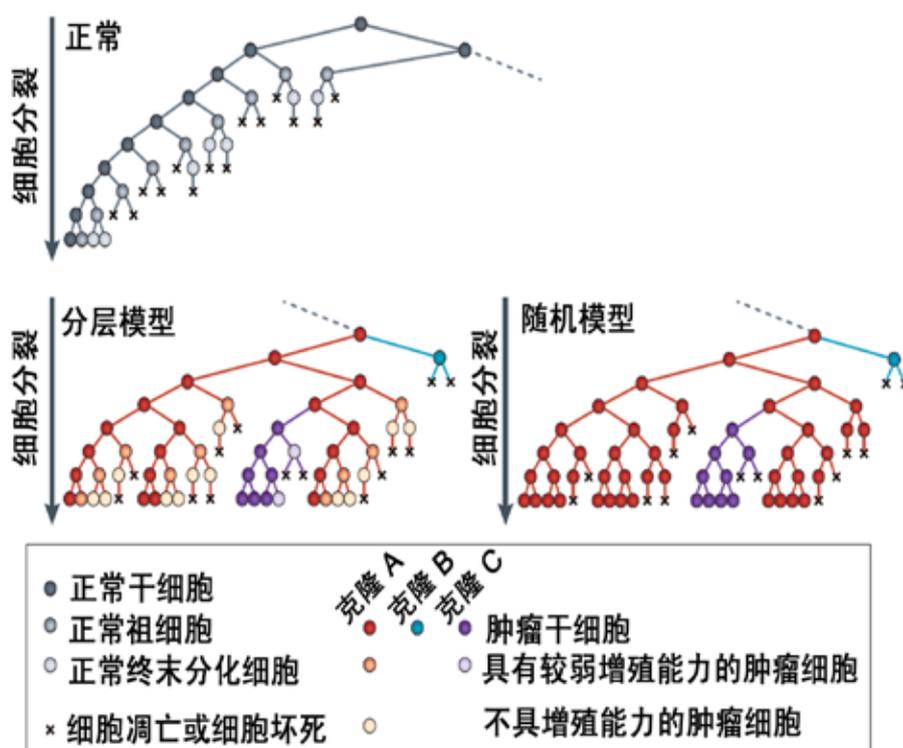


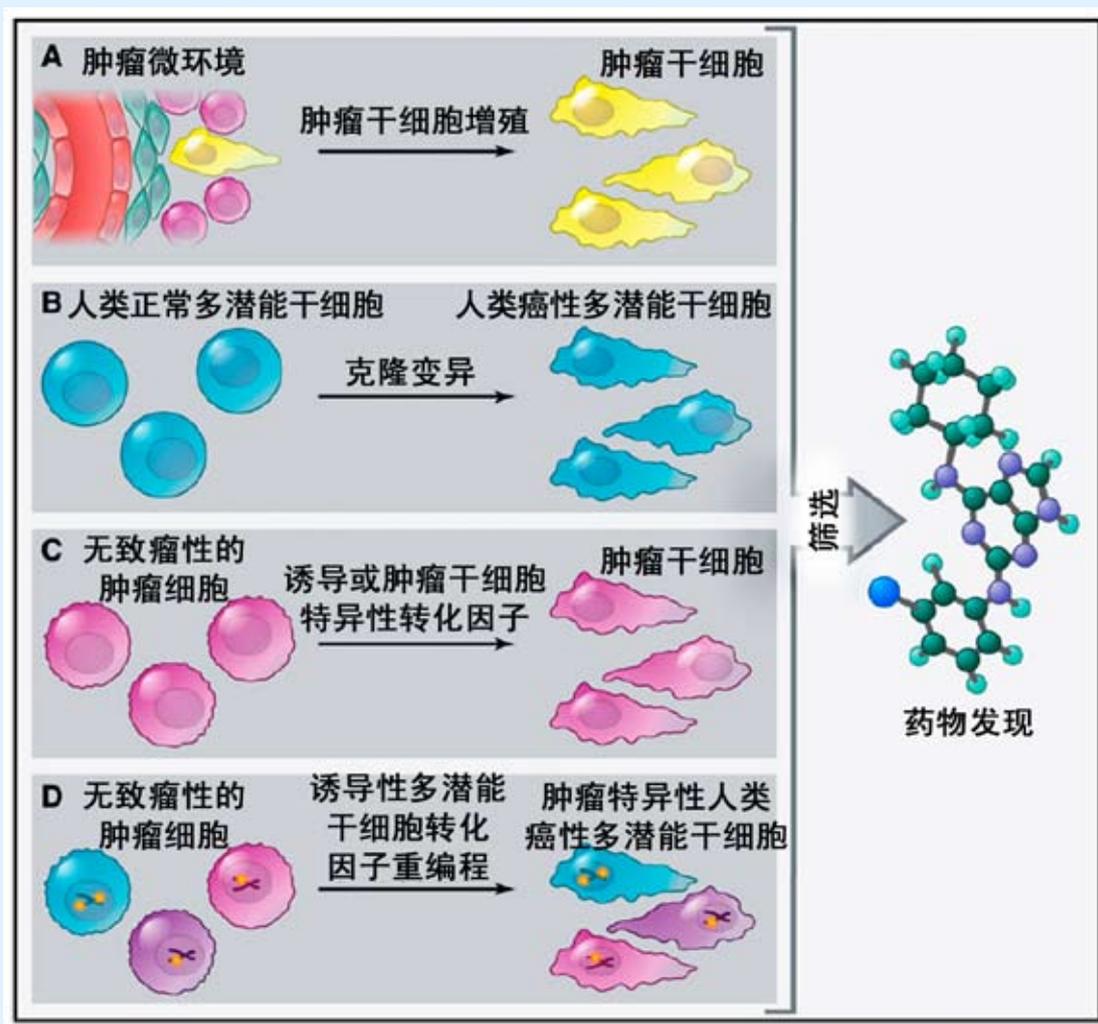
图2 肿瘤干细胞分化的分层模型和随机模型。

图片来源: Long V. Nguyen, Robert Vanner, Peter Dirks and Connie J. Eaves. (2012) Cancer stem cells: an evolving concept. *Nature Reviews Cancer*, 12: 133-143.

### 补充阅读1：建立肿瘤模型的策略

正文已经提出，肿瘤干细胞起源的三种假说，那么，在研究肿瘤干细胞的过程中，如何得到肿瘤干细胞呢？在实验中取得肿瘤干细胞是非常重要的。例如，进行靶向肿瘤干细胞的药物筛选时，就需要肿瘤干细胞。那么，这些肿瘤干细胞如何得到呢？目前可采用附图显示的四种方法。

1. 在肿瘤组织中识别肿瘤干细胞并分离，通过体外培养使其稳定表达。但是由于肿瘤干细胞在肿瘤中的含量少，且很难通过体外培养获得稳定表达，因此这并不是一个特别好的方法；
2. 从人体正常多潜能干细胞出发，通过克隆变异使其稳定表达致瘤性特征；
3. 非致瘤性的肿瘤细胞通过EMT等方法转化为具有干性的细胞；
4. 具有特定基因的非致瘤性肿瘤细胞可以通过诱导多潜能干细胞转化因子使其变为具有肿瘤特异性的多潜能干细胞。



图片来源：Kai Liu & Sheng Ding. (2012) Target Practice: Modeling Tumors with Stem Cells. *Cell*, 149(6): 1185-1187.

## 二、肿瘤干细胞生物学特征和表面标记

在对肿瘤干细胞有了大概的了解后，下面就了解肿瘤干细胞具有哪些特征、与普通肿瘤细胞有什么异同，以及与正常干细胞有什么异同。随后再来了解肿瘤干细胞的表面标记，有了这些标记才能更好地识别肿瘤干细胞并进行研究。

### 1. 肿瘤干细胞的生物学特性

#### 1.1 具有强致瘤性和促肿瘤的异质性

上文已提到，肿瘤干细胞是肿瘤组织内一小部分能够自我更新并有能力再生肿瘤细胞，虽然肿瘤细胞都具有很强的增殖能力，但与肿瘤干细胞还是有一定的区别。例如，当肿瘤细胞被接种到软琼脂或注射到小鼠体内时，大多数肿瘤细胞不能形成克隆或者不能在NOD/SCID小鼠及异种裸鼠内形成肿瘤。这也是科学家最早能发现肿瘤干细胞的原因。1997年，Bonnet和Dick等人从白血病患者体内分离出一类表面标志为 $CD34^+CD38^-$ 的细胞，这类细胞具有明显的增殖分化、自我更新能力，并能在NOD/SCID小鼠体内形成白血病，这类细胞在白血病细胞中比例很小，约为0.2%。而其它类型的白血病细胞不能在小鼠体内长出肿瘤。这个实验结果不仅证实了白血病干细胞的存在，也明确地表明，与普通干细胞相比，肿瘤干细胞具有更强的形成肿瘤的能力。

另一方面，肿瘤干细胞也具有干细胞的特性，可自我更新与分化，一方面不断产生新的肿瘤干细胞，一方面分化为子代细胞，这些子代细胞经分化具有不同的功能，一起构成肿瘤组织。这也是肿瘤异质性的来源之一。

#### 1.2 具有多重耐药性和对射线抵抗性

在对肿瘤耐药的研究中，科学家发现肿瘤干细胞的存在是导致肿瘤化疗失败的原因之一。肿瘤干细胞能高表达一些转运蛋白使其能够泵出化疗药物，因此可以在化疗中存活并引起肿瘤复发。并且肿瘤干细胞多处于细胞周期的静止期，因此有利于其躲过放疗（详见本文第四部分）。

#### 1.3 具有恶性肿瘤早期微转移能力

转移是肿瘤治疗过程中失败的重要原因，乳腺癌、肝癌等都是容易发生早期微转移的肿瘤。举例来说，乳腺癌通常采用血行播散。经研究发现，虽然乳腺癌患者外周血中存在着循环的肿瘤细胞，但多数肿瘤细胞在血循环中很快发生凋亡，即使到达转移的组织或器官也不能形成新的肿瘤。肿瘤转移是一个多原因、多阶段、多步骤的过程，不仅与肿瘤细胞本身有关，还跟其与微环境的相互作用有关。普通肿瘤的肿瘤细胞很难胜任这样的“迁徙”，而肿瘤干细胞比之普通肿瘤细胞更容易完成这一“壮举”，因此增加了肿瘤治疗的难度（详见本文第四部分）。

#### 1.4 表达与正常细胞、肿瘤细胞和干细胞相关的分子标记

前文提到，肿瘤干细胞在肿瘤组织中含量非常少，那么，如何识别呢？一般来说，可通过分子标记来识别某种细胞。遗憾的是，肿瘤干细胞的分子标记还未被研究清楚，原因在于每一种肿瘤干细胞都具有不同的分子标记，乳腺癌的肿瘤干细胞分子标记就与白血病不同。近来也有研究表明，在同一种肿瘤中也可能存在分子标记不同的肿瘤干细胞亚群，这更增加了识别其分子标记的难度（详见本文第四部分）。

#### 1.5 拥有与肿瘤和干细胞相关的信号传导通路

肿瘤干细胞同时具有肿瘤细胞与干细胞的特征，而且，其内部的信号通路、调节机制等也并不特殊（详见本文第三部分）。

## 2. 正常干细胞与肿瘤干细胞的异同

### 2.1 正常干细胞与肿瘤干细胞的相同点

肿瘤干细胞与干细胞具有很多相似的特点，如两者都能自我更新、可以产生大量分化细胞以及拥有一些共同的细胞表面抗原标记。

具体来说，两者均有两种分裂方式。一种是对称分裂，即形成两个相同的干细胞。对称分裂使肿瘤干细胞具有自我更新的能力。另一种是非对称分裂，即由于细胞质中调节分化蛋白不均匀地分配，使得一个子细胞不可逆地走向分化的终端成为功能专一的分化细胞；而另一个保持亲代的特征，仍作为干细胞保留下来，这种分裂方法能产生大量分化细胞从而形成整个肿瘤组织。除此之外，干细胞还具有迁移的特性，而肿瘤干细胞具有转移的能力。二者极为相似。

### 2.2 正常干细胞与肿瘤干细胞的不同

肿瘤干细胞与正常干细胞不同，后者拥有正常的分化程序，而前者没有。肿瘤干细胞没有分化为完全成熟细胞的能力，倾向于积累复制错误，而正常干细胞的发育机制则会防止这种现象的发生。

正常干细胞可以在某一时间内连续分裂，也可在较长时间内处于相对静止状态，干细胞的自我更新与分化具有反馈机制调节，处于平衡状态，是有序的。例如，在正常的生理条件下，造血干细胞受到细胞周期调控因子p21CIP1与p18INK4C的调节，大部分时间都处于静止状态，只有当造血干细胞受到外界信号刺激后，才会进入自我更新或分化进程，维持着组织的更新与修复，整个过程处于平衡状态。而在肿瘤干细胞中，这一调节机制并不存在，它的增殖分化是无序的，通过不断自我更新与分化，最终产生大量的肿瘤细胞，维持着肿瘤的生长与异质性。

另外干细胞的增殖具有自稳定性，当组织处于稳定状态时，平均一个干细胞产生一个子代干细胞和一个特定分化细胞，其干细胞总数保持相对恒定的状态。而肿瘤细胞则没有这一特性，其数量与比例在肿瘤的发生、发展过程中是不断变化的。

### 3. 肿瘤干细胞表面标记

细胞表面标记有助于我们识别、鉴定和分离细胞，因此确定一类细胞的表面标记在研究中显得非常重要。为了更好地研究肿瘤干细胞，确定肿瘤干细胞的表面标记是非常必要的。目前，鉴定肿瘤干细胞最为权威的方法就是筛选确定肿瘤干细胞特异的细胞表面标记物，并根据这些标记物分离肿瘤干细胞。一般程序为：原代培养肿瘤干细胞；根据细胞表面特异性标记物，采用流式细胞仪分离肿瘤干细胞样细胞；鉴定其自我更新能力、增殖能力和分化能力；最后将细胞移植入NOD/SCID小鼠中进行成瘤实验，以鉴定细胞的成瘤能力。

由于干细胞和肿瘤干细胞拥有很多几乎相同的调控因子，这些调控因子调控着两者的自我更新、分化以及增殖进程，因此两种干细胞（如造血干细胞和肿瘤干细胞）除了拥有很多相似的特性外也拥有很多共同的细胞表面标记。除此之外，肿瘤干细胞还具有一些特异的细胞表面抗原标记，这些标记大多和恶性肿瘤中与致癌、转移、复发相关的标记相似。前文中已经提到过几种不同的肿瘤干细胞，可以发现，这几种不同的肿瘤干细胞的表面标记都是不同的，然而，虽然表型不同但特性却是相似的。

从上文可以看出，肿瘤干细胞的表面标记与其特性一样，与正常干细胞和肿瘤细胞都有很高的相似性，其特异性表面标记很少。同时，不同肿瘤组织中的肿瘤干细胞表面标记也不同，使得目前对肿瘤干细胞的分离和鉴定很困难。尽管如此，目前已经成功确定了多种肿瘤干细胞的表面标记（表1）。从表中可以看出，不同的肿瘤组织中肿瘤干细胞的表面标记是不同的，即使同是血液循环系统类的肿瘤，其表面标记也并不完全相同。

最新的研究也表明，即使是在同一种肿瘤组织中，也存在不同的肿瘤干细胞亚群，这些亚群之间的肿瘤表面标记也是不同的，这更增加了分离和鉴定肿瘤干细胞的难度。因此在鉴定肿瘤干细胞时，还必须确定其是否具有肿瘤干细胞特性。

表1 多种肿瘤干细胞中具有代表性的表面标记

肿瘤类别	肿瘤干细胞表面标记
急性髓样细胞白血病	CD34 <sup>+</sup> /CD38 <sup>-</sup> /Thy-1 <sup>-</sup> /c-kit <sup>+</sup> /CD133 <sup>+</sup>
慢性髓样细胞白血病	Ph <sup>+</sup> /CD34 <sup>+</sup> /CXCR4 <sup>+</sup>
急性淋巴细胞性白血病	CD133 <sup>+</sup> /CD19 <sup>-</sup> /CD38 <sup>-</sup>
乳腺癌	ESA <sup>+</sup> /CD44 <sup>+</sup> /CXCR4 <sup>+</sup> /Lin <sup>-</sup> /CD24 <sup>-low</sup> 和 CD44 <sup>+</sup> /CD24 <sup>-low</sup> /ESA <sup>+</sup>
肺癌	CD133 <sup>+</sup> /CD34 <sup>+</sup> /CD44 <sup>+</sup>
前列腺癌	Integrin $\alpha_2\beta_{1hi}$ /CD133 和 CD44 <sup>+</sup> /CD24 <sup>-</sup>
胰腺癌	ESA <sup>+</sup> /CD44 <sup>+</sup> /CD24 <sup>+</sup>
大肠癌	EpCAM <sup>high</sup> /CD44 <sup>+</sup> /CD166 <sup>+</sup>
黑色素瘤	CD133 <sup>+</sup> /CD34 <sup>+</sup> /CD44 <sup>+</sup>

资料来源：窦骏. (2009). 肿瘤干细胞. 东南大学出版社. (部分内容有更新)

## 三、肿瘤干细胞信号通路

从肿瘤干细胞起源可以看出，肿瘤干细胞都是来源于正常细胞，因此其信号传导通路和正常细胞并没有很大区别（图3）。肿瘤干细胞身处肿瘤干细胞微环境（niche）中，影响肿瘤干细胞的主要通路有Wnt、Sonic hedgehog、Notch、BMP、Bmi及PI3K/Akt等。这些通路影响和调控着肿瘤干细胞的自我更新和分化，其中前三个通路尤为重要，它们是目前针对肿瘤干细胞治疗的主要靶向通路。下面将对这些通路做简要的介绍。

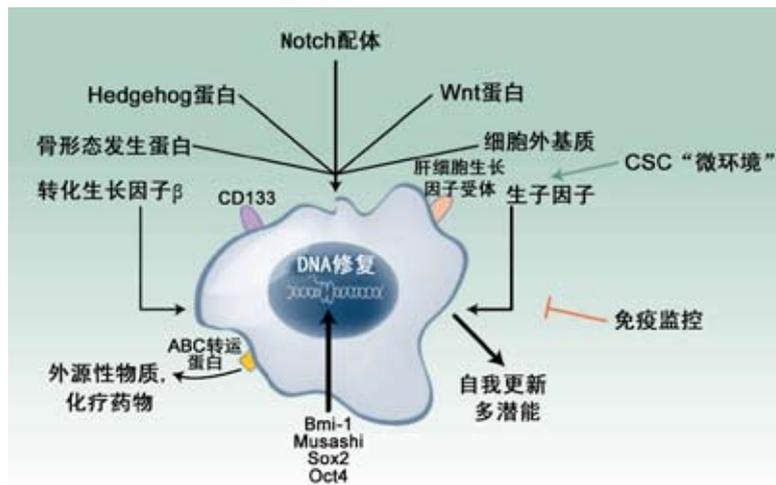


图3 肿瘤干细胞信号传导通路示意图。

图片来源: Antonio Pannuti, Kimberly Foreman, Paola Rizzo, et al. (2010) Targeting Notch to Target Cancer Stem Cells. *Clin Cancer Res*, 16(12): 3141-3152.

### 1. Wnt/ $\beta$ -catenin通路

Wnt是一类分泌型蛋白，经自分泌和旁分泌后与细胞膜上的受体结合，激活多条细胞内的信号途径从而发挥作用。Wnt信号通路是一条高度保守的通路，参与调节多种细胞过程，包括增殖、分化、生存及凋亡等。除此之外，Wnt信号通路在胚胎发育以及成熟组织中的内稳态维持中也发挥着重要作用。Wnt信号通路包括经典的Wnt通路和非经典的Wnt通路，前者即wnt/ $\beta$ -catenin通路，后者包括wnt/ $Ca^{2+}$ 通路、通过JNK传导的细胞极性通路以及PKA通路。其中，经典的Wnt通路是最为重要的通路，以下所说的Wnt通路均指经典的Wnt通路。

Wnt通路是肿瘤干细胞中一条非常重要的通路，主要表现在表皮干细胞、造血干细胞等中，对细胞维持自我更新、抑制分化、增殖迁徙、极性和凋亡起重要作用。例如，在结肠癌、肝癌和乳腺癌等肿瘤组织中，Wnt信号通路的关键基因 $\beta$ -catenin过度激活或 $\beta$ -catenin的抑制基因APC失活都将导致 $\beta$ -catenin在细胞内积聚，进而促进细胞异常增生和恶性转化。

这条通路的主要成分包括Wnt蛋白、卷曲跨膜受体蛋白（Frizzled, FZ）、低密度脂蛋白受体相关蛋白（LRP）、松散蛋白（Dishevelled, Dsh/Dvl）、细胞内酪蛋白激酶（casein kinase, CK）、轴素（Axin）、糖原合成酶激酶3 $\beta$ （GSK3 $\beta$ ）、腺瘤性结肠息肉病基因（APC）及 $\beta$ -连环蛋白（ $\beta$ -catenin）等（图4）。

Wnt蛋白是一种富含半胱氨酸的糖蛋白，长度约为350~380个氨基酸，带有一段由23~24个半胱氨酸残留的恒定保守区。Wnt蛋白可通过这一区与其膜受体FZ蛋白结合从而启动Wnt通路。如图4（左图），当没有Wnt信号时，新合成的 $\beta$ -catenin与胞浆中的APC、Axin、CK1和GSK3 $\beta$ 相互作用，形成“APC-Axin-GSK3 $\beta$ 复合物”。此时，CK1首先将 $\beta$ -catenin第45位的色氨酸磷酸化，GSK3 $\beta$ 再将 $\beta$ -catenin的33位、37位的丝氨酸以及41位的苏氨酸磷酸化。此后， $\beta$ -catenin被这个复合物迅速降解而保持较低的水平，不能进入细胞核。这就是所谓的“关闭状态”（off-state）。当有Wnt信号时，如图4（右图），在Wnt信号的刺激下，Wnt与FZ蛋白及LRP组成受体复合物（FZ/LRP）后，胞质中的Dsh被募集到胞膜下。Dsh能够将GSK3 $\beta$ 磷酸化，使其从Axin上脱离，使得“APC-Axin-GSK3 $\beta$ 复合物”不能形成，进而阻断 $\beta$ -catenin的降解，使大量游离的 $\beta$ -catenin在胞浆聚集，并进入细胞核。这就是所谓的“启动”状态（on-state）。

$\beta$ -catenin进入细胞核后可激活Wnt信号的下游分子。Wnt信号的下游分子主要包括淋巴样增强因子（lymphoid enhancement factor, LEF）/T细胞因子（T cell factor, TCF）。LEF/TCF是一类具有双向调节功能的转录因子，当没有 $\beta$ -catenin时，LEF/TCF与转录抑制因子Groucho和组蛋白脱乙酰基酶（HDAC）组成抑制复合物，使得Wnt的靶基因不能表达。而 $\beta$ -catenin进入细胞核后可直接取代Groucho而与LEF/TCF结合，使得LEF/TCF被抑制，从而使Wnt的靶基因得以表达。这些靶基因包括癌基因Myc、细胞周期蛋白D1（Cyclin D1）等。这些基因的表达在肿瘤的发生、发展以及转移过程中都起着重要作用。

Wnt/ $\beta$ -catenin通路的调控失常与多种肿瘤的发生都有关系。近年来更是发现其可能在调控未成熟的肿瘤干细胞方面起着关键作用，因为在多种肿瘤的肿瘤干细胞中都发现其异常激活。鉴于此，靶向Wnt/ $\beta$ -catenin通路来治疗肿瘤干细胞也越来越得到认可。这些内容将在本文第五部分进行介绍。

## 2. Hedgehog通路

Hedgehog通路在胚胎发育中起着重要作用，控制着细胞的命运。当这个信号通路异常时，可能引起肿瘤的发生和发展。Hedgehog通路在组成与作用机制上与前面的Wnt通路非常相似，都有关闭和开启两种状态。

Hedgehog是1980年通过基因突变筛选方法在果蝇中首先发现的。在人类中，一共有3种同源基因——Sonic Hedgehog、India Hedgehog及Desert Hedgehog，分别编码蛋白SHh、IHh及Dhh。这三种蛋白可在多种器官组织的分泌细胞中产生，具有自我催化加工的能力，其中人们对SHh的研究最为广泛。Hh蛋白家族均由两个结构域——氨基端Hh-N和羧基端Hh-C组成。其中，Hh-N传递信号，Hh-C则具有自身蛋白水解酶活性及胆固醇转移酶功能。Hh前体蛋白在内质网中通过自身催化分裂成两个部分，其中Hh-C共价结合胆固醇分子并将其转移到Hh-N的羧基端，随后在酰基转移酶的作用下Hh-N的氨基端的半胱氨酸发生棕榈酰化，因此，只有经过此过程的Hh蛋白才具有活性。

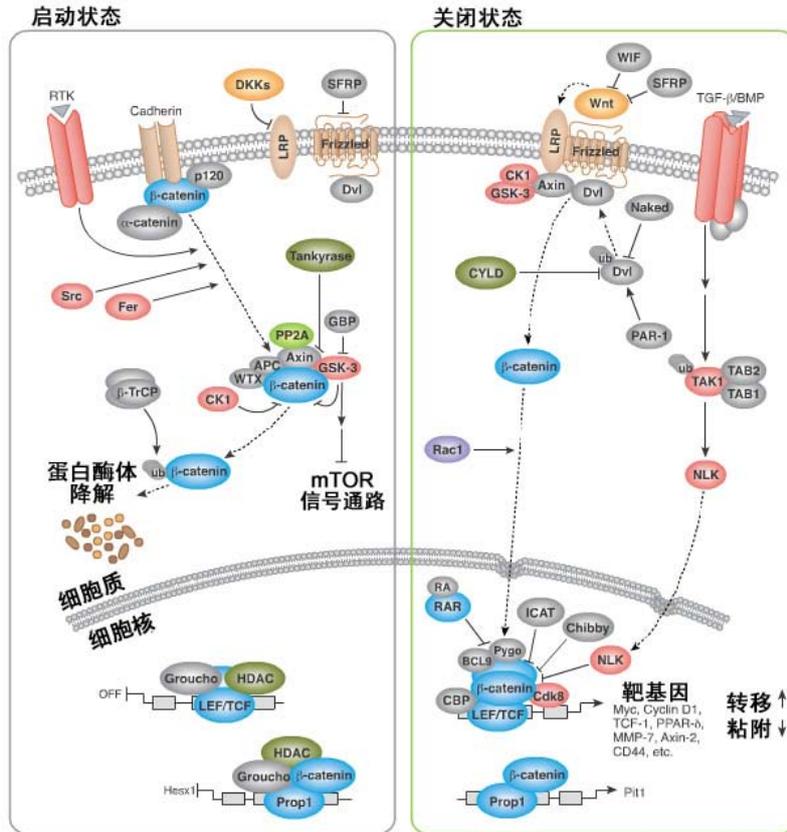


图4 Wnt/β-catenin通路图。

图片来源: [http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Wnt\\_beta\\_Catenin.html](http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Wnt_beta_Catenin.html)

与Wnt蛋白一样，Hh通过与膜上的受体结合激活受体而引起一系列级联反应。在Hh通路中，由两种蛋白受体，即Patched (Ptc)和Smoothened (Smo)介导Hh信号向胞内传递。PTCH1、PTCH2是Ptc在脊椎动物中的两种同源蛋白。PTCH是一种12次跨膜蛋白，可与三种Hh结合，无明显选择性。Smo蛋白也位于细胞膜，是一个含有7次跨膜结构域的蛋白，与G蛋白偶联型受体同源。Hh信号通路的转录因子是Ci (Cubitus interruptus, 在脊椎动物中为Gli, 在脊椎动物中有三种Gli——Gli1是激活Hh靶向的基因，Gli2可能抑制也可能激活，Gli3抑制目标基因转录)。Ci位于细胞质中，具有锌指结构，分子质量为155kDa。在脊椎动物中，当没有Hh时，PTCH与Smo结合并抑制Smo。下游Gli与驱动蛋白cos-2 (costa-1/2)、适配蛋白SuFu (suppressor of fused) 形成复合物锚定在细胞质的微管上。在复合物中，Gli被PKA、GSK3、CK1降解，Gli介导的转录和靶基因的表达被抑制。当有Hh信号时，Hh与Ptc结合，解除Ptc对Smo的抑制作用。恢复活性的Smo可引起cos-2和SuFu高度磷酸化，而将全长的Gli从复合物中释放出来，以致活化的Gli进入细胞核，启动Hh靶基因的转录和表达。过程如图5所示。

Hh信号通路与肿瘤的发生、发展密切相关，Hh信号通路过度活化致肿瘤作用首先发现于皮肤基底细胞癌，实验发现过度表达SHh或Gli1、Gli2可直接导致类似于基底细胞癌的上皮内肿瘤的形成。Hh信号通路也在肿瘤干细胞中起着重要作用，例如有乳腺癌干细胞中Bmi-1高表达，它是SHh通路的下游靶标。而在CML中，Hh通路对CSC的维持也起着重要作用。在胰腺癌中，如果用环巴胺抑制Hh信号通路，可抑制肿瘤干细胞的EMT和转移。关于靶向治疗Hh信号通路的内容将在第五部分详细介绍。

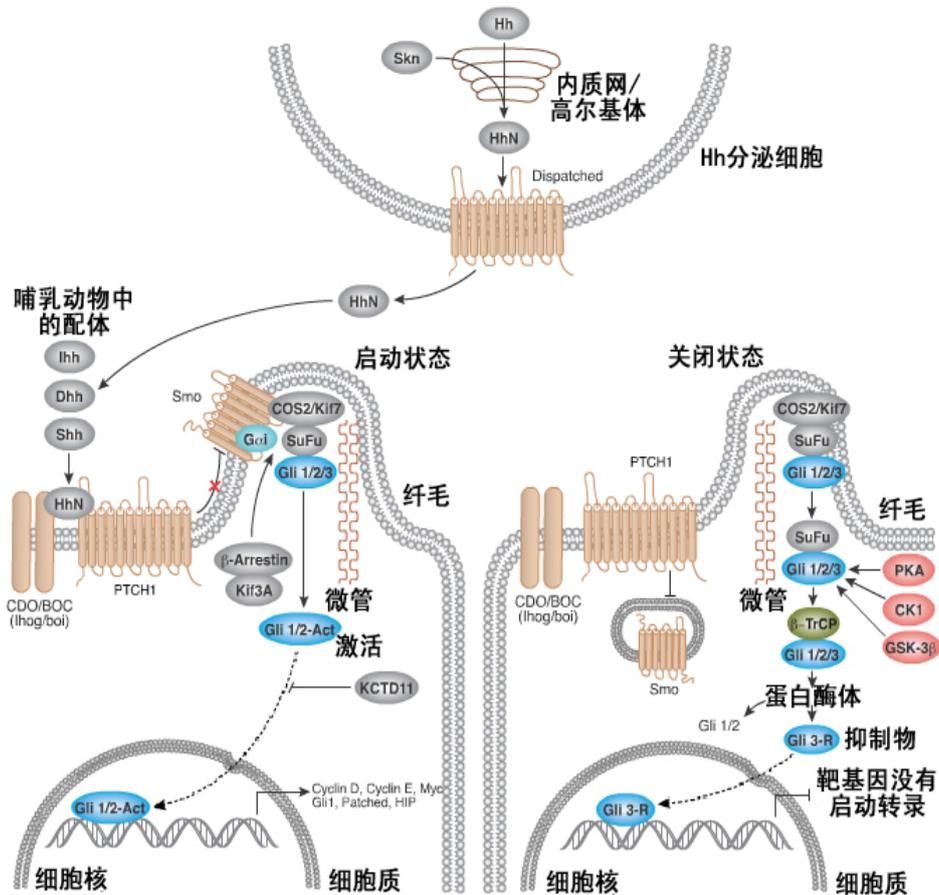


图5 脊椎动物的Hedgehog通路图。

图片来源: <http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Hedgehog.html>

### 3. Notch通路

Notch信号通路也是非常保守的信号通路，它维持干细胞的生长并启动胚胎或胎儿出生后细胞的分化。Notch信号通路通过调控细胞的分化、增殖和凋亡从而影响正常组织和细胞的生长、发育，因此也是肿瘤疾病发生中非常关键的环节。Notch与肿瘤的关系最早见于T细胞白血病中，当点突变或者染色体异位导致Notch-1胞外区丢失时，Notch信号会持续激活从而引起T细胞白血病。

与Wnt信号通路和Hh信号通路相比，Notch信号通路组成成分较少，它主要由Notch受体、Notch配体和CSL等组成(图6)。Notch信号首先由两个临近细胞的Notch受体与Notch配体相互作用开始。在脊椎动物中，Notch配体主要有两类——jagged蛋白和delta-like蛋白(delta-like ligand, DLL)。前者有jagged1/2(JAG1和JAG2)两种亚型，后者有三种亚型，即DLL1、DLL3和DLL4。Notch受体是一种300kD的单链跨膜蛋白，共有4个亚型，即Notch-1、Notch-2、Notch-3和Notch-4。Notch配体由胞外受体结合区和胞内信号传导区通过非共价键结合组成，胞外受体结合区含有许多表皮生长因子样结构域，可与Notch配体相互作用。当没有Notch信号时，CSL作为转录抑制因子，抑制Notch信号通路靶基因的转录。

当有Notch信号时，Notch受体与Notch配体结合使受体构象改变，从而暴露出受体胞外域的TACE金属蛋白酶切割位点，随后在 $\gamma$ 分泌酶（ $\gamma$ -secretase）的介导下发生蛋白水解，释放出胞外域和有活性的胞内域（Notch intracellular domain, NICD）。NICD随后进入细胞核，与转录抑制因子CSL结合。CSL与NICD结合并与MAML（master-mind-like）结合形成三聚体。MAML募集组蛋白乙酰基转移酶、P<sup>300</sup>/CBP等乙酰化组蛋白的因子后，即成为转录活化因子，使Notch靶基因表达。Notch靶基因包括Myc、P21、hes及cyclin D3等。Notch主要介导分化抑制信号，抑制干细胞分化，当Notch信号通路被抑制时，干细胞进入分化程序，发育为功能细胞。Notch信号通路也是肿瘤干细胞靶向治疗的一个热点（详情请见本文第五部分）。

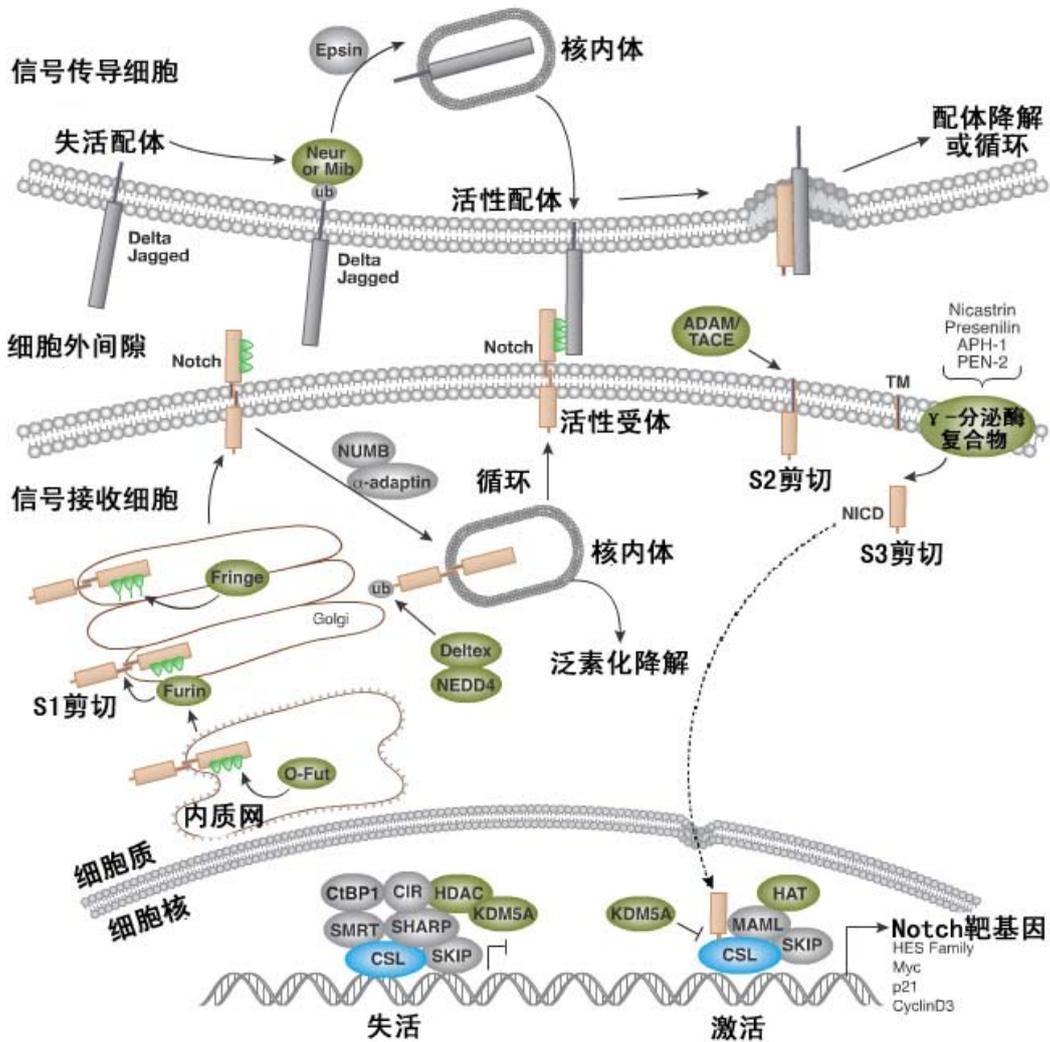


图6 Notch信号通路。

图片来源: <http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Notch.html>

## 4. 其它通路

除上述三条通路外，还有其它通路与肿瘤干细胞相关，这里作一个简要介绍。

### 4.1 BMP信号通路

骨形态发生蛋白（bone morphogenetic proteins, BMP）是一大类分泌型生长因子的统称。它由17种氨基酸组成，具有骨诱导活性和促使细胞分化的能力。BMP受体是一种糖蛋白，同时属于膜蛋白受体，它是TGF- $\beta$ 受体超家族成员，具有丝/苏氨酸蛋白激酶结构，可分为细胞外域、跨膜域和细胞内域。目前发现的BMP受体有两种——I型BMP受体（BMPRI）和II型BMP受体（BMPRII）。两种受体相互作用形成异二聚体。BMPRI可直接与配体结合，但结合力较弱，信号传导时必须与BMPRII结合。

BMPRI和BMPRII的胞外域与BMP配体结合，配体与受体二聚体结合后，BMPRI在BMPRII的介导下，其GS域被磷酸化。BMPRI的磷酸化使得原本与GS域结合的蛋白从GS域上解离。当没有BMP信号时，这些结合蛋白阻断了BMP受体信号的传递。这些蛋白的解离使BMPRI活化，活化后的BMPRI可以将细胞质中的信号传导蛋白磷酸化，这些蛋白主要是R-SMADs和MAPKs，还包括JNK、ERK和p38。这些蛋白被磷酸化后直接或间接调控细胞核中BMP靶基因的转录因子，从而调控BMP信号通路（图7）。

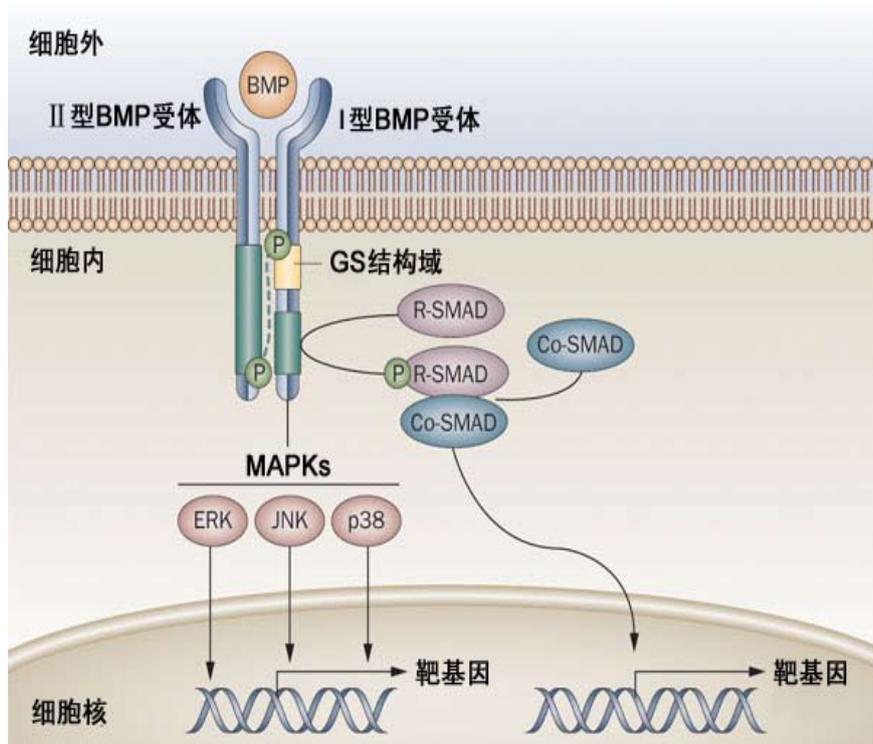


图7 BMP信号通路。

图片来源: Eileen M. Shore & Frederick S. Kaplan. (2010) Inherited human diseases of heterotopic bone formation. *Nature Reviews Rheumatology*, 6: 518-527.

## 4.2 Bmi-1信号通路

Bmi-1基因（B cell-specific MLV inte-gration site-1）是多梳基因（polycomb group genes, PcG）家族的重要成员之一，它编码326个氨基酸组成的核蛋白，参与干细胞的增殖、分化与衰老，在多种肿瘤形成过程中起重要作用。在正常干细胞中，p16<sup>Ink4A</sup>和p19<sup>Arf</sup>基因表达被Bmi-1抑制。当Bmi-1高表达时，p16<sup>Ink4A</sup>表达下调，促进cyclinD与CDK4/6形成复合物，磷酸化pRB，从而诱导E2F依赖的基因转录，促进细胞周期和DNA合成。同时，p19<sup>Arf</sup>的表达也被抑制，促进MDM2介导的P53泛素化降解，导致P53水平下降，从而抑制细胞周期停滞和细胞凋亡。有研究表明，在乳腺上皮细胞中，Bmi-1的过表达会导致其永生化和诱导乳腺癌的发生。除此以外，癌基因Bmi-1在多种肿瘤细胞中高表达并在维持肿瘤干细胞及造血、神经等成体干细胞的自我更新中发挥作用（图8）。

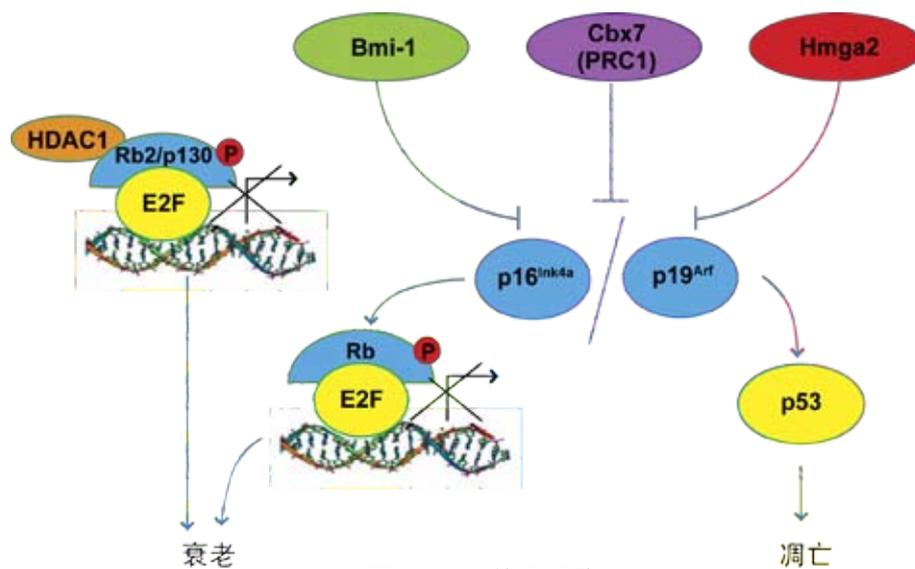


图8 Bmi-1信号通路。

图片来源: Catherine E. Symonds, Umberto Galderisi, Antonio Giordano. (2009) Aging of the inception cellular population: The relationship between stem cells and aging. *AGING*, 1(4): 372-381.

## 5. 小结

在这一部分内容中，我们介绍了关于肿瘤干细胞的几条重要的信号通路，当然这些通路并不是全部，还有诸如PI3K/Akt等信号通路也与肿瘤干细胞有关。这些通路是肿瘤细胞、干细胞与肿瘤干细胞共有的，只是表达方式不同，这也为我们的研究带来了挑战。如图9所示，细胞内信号通路是非常多的。同时，我们也要认识到，不同的信号通路之间并不是没有联系的（如图10），Hh信号通路的靶基因包括Jag2，它是Notch配体的基因，说明可以通过调节Hh信号通路影响Notch配体的产生。除此之外，GSK3 $\beta$ 不仅在Wnt信号通路中起着关键作用，同时也参与Hh信号通路。对于这些信号通路的研究为肿瘤研究开辟了一个新的领域，也为肿瘤治疗带来了新的希望。

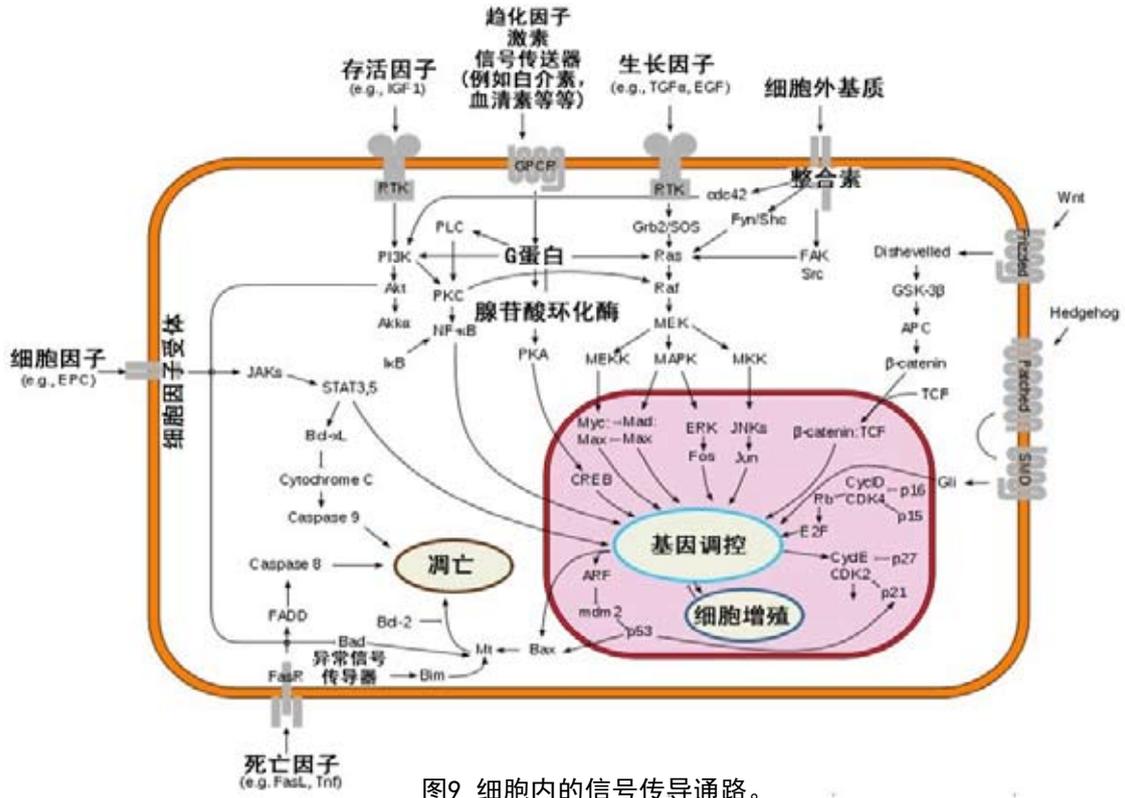


图9 细胞内的信号传导通路。

图片来源: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Signal\\_transduction\\_pathways.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Signal_transduction_pathways.svg)

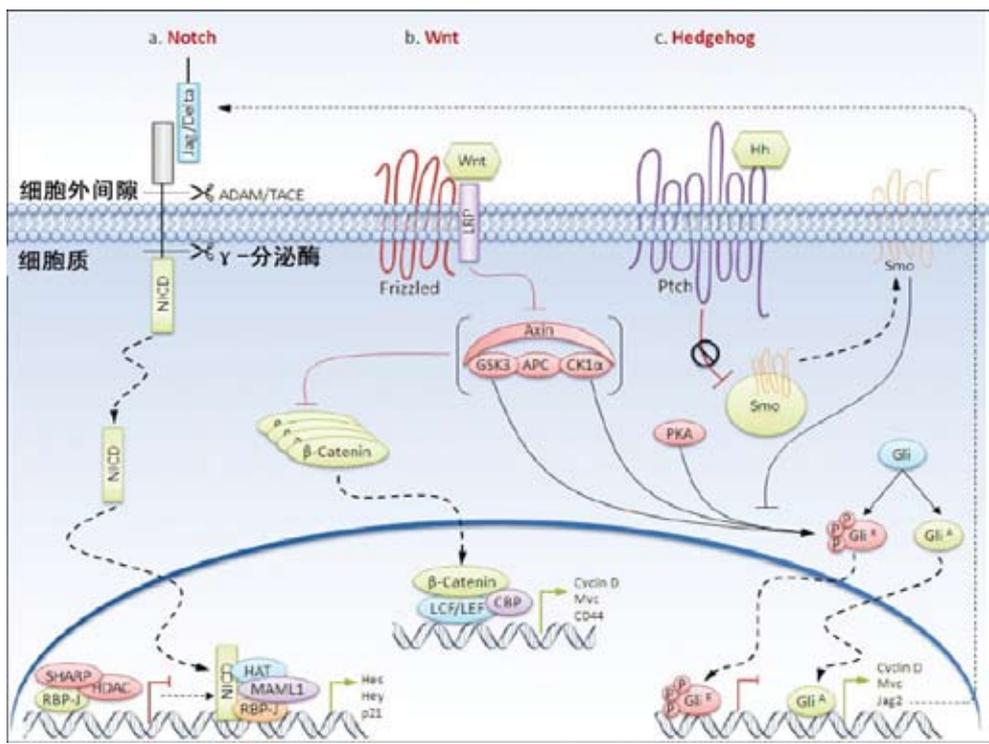


图10 Wnt、Notch、Hedgehog信号通路及其相互作用。

图片来源: Gautam K. Malhotra, Xiangshan Zhao, Hamid Band, et al. (2011) Shared signaling pathways in normal and breast cancer stem cells. *J. Carcinog.*, 10:38.

## 四、肿瘤干细胞与肿瘤耐药性和肿瘤转移

在对肿瘤进行治疗时，我们会发现，尽管药物能通过有效减少那些增殖迅速的肿瘤细胞来使肿瘤体积变小，但是往往难以杀灭所有的肿瘤细胞。肿瘤干细胞就是其中最难以杀灭的细胞，尽管这些细胞存在的数量非常少，但是它们能够增殖和自我更新，具有多向分化潜能，有能力再次分化为肿瘤组织所需要的各种不同的癌细胞，从而形成新的肿瘤。因此，在常规癌症治疗后，肿瘤干细胞是肿瘤转移和抗药物治疗的复发性肿瘤的来源。如图11所示，在经过化疗与放射性治疗后，普通肿瘤细胞死亡，肿瘤得到缓解，但肿瘤干细胞依然存在并可以转移，这就增加了肿瘤治疗的难度。在这部分内容中，我们将就肿瘤干细胞的耐药机制与肿瘤转移的关系等作简单介绍。

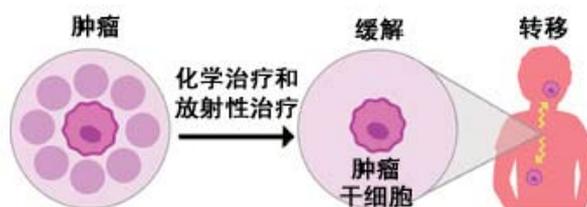


图11 肿瘤干细胞耐药与肿瘤转移。

图片来源：<http://www.childrenshospital.org/gallery/index.cfm?G=67&page=3>

### 1. 肿瘤干细胞的耐药机制

肿瘤干细胞的耐药机制总结来说可以归为以下内容。

#### 1.1 转运蛋白高表达

普遍认为是ABC转运蛋白家族（ATP-binding cassette）介导了肿瘤干细胞多药耐药。如ABCB1、ABCG2等可作为膜泵，介导肿瘤干细胞耐药。这些转运蛋白通过利用ATP分解产生的能量主动将细胞内的药物泵出，从而保护自身免受细胞毒性药物的损伤。高表达这类分子的肿瘤干细胞可以将化疗药物泵出细胞，降低细胞内的药物浓度，导致耐药。此外还有一些DNA修复相关的酶，抗凋亡相关蛋白的高表达，也与其耐药相关。

#### 1.2 肿瘤干细胞具有严格的细胞周期或处于细胞静止期

肿瘤组织中存在的少量肿瘤干细胞绝大部分处于G0期，而临床上常用的肿瘤化疗药物主要是针对处于细胞活跃周期的肿瘤细胞，如烷化剂及喜树碱等都只能杀死处于成熟期在进行分裂的肿瘤细胞。而处于静止状态的肿瘤干细胞因为不分裂，能在化疗中残留下来，一旦停止用药，这些肿瘤干细胞受到刺激就会进入细胞分裂周期，通过自我更新和分化重新形成肿瘤，造成肿瘤复发。

### 1.3 抗氧化能力、抗凋亡能力、DNA修复能力及可自我更新能力均提高

肿瘤干细胞能改变细胞内氧化和抗氧化的平衡、加速细胞氧化作用，导致体内氧化还原失调，诱导细胞耐药。同时，肿瘤干细胞高表达DNA修复相关的酶、抗凋亡相关蛋白，使其DNA修复能力和抗凋亡能力提高。Bao等人研究发现，神经胶质瘤在放射治疗后，肿瘤组织中CD133<sup>+</sup>细胞数增加了，而且增加的比例和放射抵抗的程度相一致。进一步分析神经胶质瘤移植物和人神经胶质瘤标本发现，CD133<sup>+</sup>的肿瘤细胞在激活放射治疗所致的DNA损伤检测点和修复DNA损伤的效率上要比CD133<sup>-</sup>的肿瘤细胞高。

除此以外，肿瘤干细胞微环境、信号通路的异常表达也与其耐药有关。肿瘤干细胞耐药是一种多环节调控过程，如何有效地对其进行治疗、如何选择靶点等也是目前研究的热点。

## 2. 肿瘤干细胞与肿瘤转移

肿瘤转移是肿瘤治疗过程中面临的最严重的问题之一。目前认为，肿瘤干细胞是肿瘤转移的关键。目前鉴定出的具有肿瘤干细胞的肿瘤中，包括胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、黑色素瘤及脑肿瘤等，都有肿瘤转移。

例如在胰腺癌中，胰腺癌干细胞存在于CD133<sup>+</sup>细胞亚群中，而且其中只有CXCR4<sup>+</sup>细胞才具有转移性，因为CD133<sup>+</sup> CXCR4<sup>+</sup>在转移前哨处较多，而肿瘤组织内部则较少。而且实验也证明CD133<sup>+</sup> CXCR4<sup>+</sup>细胞的侵袭能力明显强于CD133<sup>+</sup> CXCR4<sup>-</sup>细胞。在小鼠体内，CD133<sup>+</sup> CXCR4<sup>+</sup>细胞可形成肝转移，而CD133<sup>+</sup> CXCR4<sup>-</sup>则未见肝转移。可见，肿瘤干细胞与肿瘤转移息息相关。同样，在乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、黑色素瘤及脑肿瘤等中都有同样的情况。

肿瘤转移机制目前多被认可的是“种子与土壤”学说。在该学说中，“土壤”是指为转移高发组织提供适宜癌细胞增殖的微环境，“种子”则是指转移至此处的癌细胞。肿瘤转移主要包括以下几个步骤：肿瘤细胞从原发瘤上脱落、侵入血管和(或)淋巴系统、在将要进行转移的器官组织的脉管系统处黏附并渗出、形成微转移灶（micrometastasis）以及维持肿瘤生长并大量增殖形成明显的转移灶。肿瘤转移是一个极其复杂的病理过程，大部分进入循环的肿瘤细胞最终都会死亡，并且只有约0.02%的细胞在到达转移处能形成临床上明显的转移灶，这个比例非常小。要完成这一过程，进入循环的肿瘤细胞就必须能做到自我更新且大量增殖，肿瘤干细胞就是最佳的转移载体。

## 3. EMT与肿瘤转移

上皮间质转化（epithelial-to-mesenchymal transition, EMT）是具有极性的上皮细胞转化为具有移行能力的间质细胞，并获得侵袭和迁移能力的过程。EMT是一个多步骤的动态变化过程，上皮细胞间相互作用消失，组织结构松散，立方上皮细胞转变为纺锤形纤维细胞形态，并表现出侵袭性。实体肿瘤中央的细胞为上皮细胞表型，周围的细胞常常会呈间质细胞表型，其较强的运动能力使肿瘤细胞在局部产生浸润，并侵入血和淋巴管而转移至靶器官。到达靶器官后，癌细胞可发生间质上皮转化来重建细胞间连接及细胞骨架从而形成转移灶。EMT与肿瘤转移密切相关，而且也可以作为得到肿瘤干细胞的方法。

EMT的概念和肿瘤干细胞模型试图从不同的角度来揭示肿瘤的进展，但两者都不能独立地解释所有生物学事件。诱导EMT能促使肿瘤细胞获得干细胞特性，通过诱导分化的肿瘤细胞最终形成肿瘤干细胞并维持干性，而肿瘤干细胞同样具有EMT特征。多种蛋白分子、microRNA及微环境等参与EMT过程，具有复杂的分子机制，同时也涉及多个信号转导通路，其中最重要的就是TGF- $\beta$ 通路。

#### 4. 肿瘤干细胞微环境 (niche)

最后，介绍一下肿瘤干细胞微环境 (niche)。Niche一词，直译为“壁龛”，但目前在生物学上并没有统一的被人们认可的翻译。从功能上理解，niche是一种微型的生态环境。肿瘤微环境是指肿瘤局部浸润的免疫细胞、间质细胞及所分泌的活性介质等与癌细胞共同构成的局域内环境，这其中包括许多健康的细胞。同样的，肿瘤干细胞的微环境也是如此。肿瘤干细胞微环境在肿瘤的发生发展中起着非常重要的作用。

首先，微环境与肿瘤发生有关。干细胞微环境可通过控制干细胞增殖来防止肿瘤的发生，而干细胞微环境的反常调控则会导致干细胞增殖失控，进而导致肿瘤的发生。

其次，肿瘤干细胞微环境对肿瘤干细胞起着保护作用，也是肿瘤干细胞耐药能力强悍的一个原因。微环境的存在使药物进入靶细胞更加困难，甚至使药物根本不能到达靶细胞从而达到保护的目的。

最后，肿瘤干细胞微环境与肿瘤转移也有关系。例如EMT的发生就是由肿瘤微环境中的间质细胞（间充质干细胞、巨噬细胞、成纤维细胞等）释放相关信号激活EMT相关的转录因子而触发的，这些转录因子包括转化生长因子 $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )、表皮生长因子 (epithelial growth factor, EGF) 和成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 等。



# 资讯 · 频道

www.LifeOmic.com

## 五、肿瘤干细胞在肿瘤治疗中的研究现状

经过前面的介绍，相信大家对肿瘤干细胞已经有了一定的认识，我们对肿瘤干细胞的研究，归根结底是为了能够对肿瘤进行治疗。在这一部分的内容中，将对靶向肿瘤干细胞的治疗策略（包括上市药物与进入临床实验的化合物）作简单介绍。

### 1. 靶向治疗

靶向治疗和肿瘤干细胞一样，并非一个全新的概念。简单概括来说，靶向治疗就是所谓的对准病根进行治疗。它是在细胞分子水平上，针对已经明确的可治疗位点（该位点可以是蛋白分子，也可以是基因片段）来设计相应的治疗药物，药物进入体内会特异地选择该位点结合并发生作用，进而达到治疗的目的，同时又不对其它位点产生影响。对肿瘤来说，就是特意性地针对其可治疗位点，杀死肿瘤细胞，同时不波及肿瘤周围的正常组织细胞，从而达到治疗的目的，并减少可能产生的副作用。传统的化疗药物，如顺铂、喜树碱类及紫杉醇类都是针对细胞分裂的药物，但同时它们也是细胞毒性药物，容易对正常细胞产生不良影响，引起严重的副反应。近年来，针对药物的研究都集中在靶向治疗上，如著名的替尼家族类药物在肿瘤治疗中展现了很好的应用前景。

在对肿瘤干细胞的研究中可以发现，单纯杀死肿瘤细胞、减少肿瘤体积并不能使患者的生存率得到显著提高，直接杀灭已突变的肿瘤干细胞或诱使它们分化为成熟的肿瘤细胞对肿瘤的治疗起着积极作用。但是肿瘤干细胞具有很强的耐药性，要直接进行治疗是非常困难的，因此，根据通过对肿瘤干细胞生物学特性以及相关信号通路、细胞调控机制的研究，从中发现新的治疗策略与治疗靶点是目前研究的重点。在前面的第三部分（肿瘤干细胞信号通路）已经介绍了肿瘤干细胞中三条主要的信号通路，这三条通路与多种肿瘤的发生息息相关（图12），对于肿瘤干细胞的治疗也主要集中在这三条信号通路。下面将对此做详细的介绍。

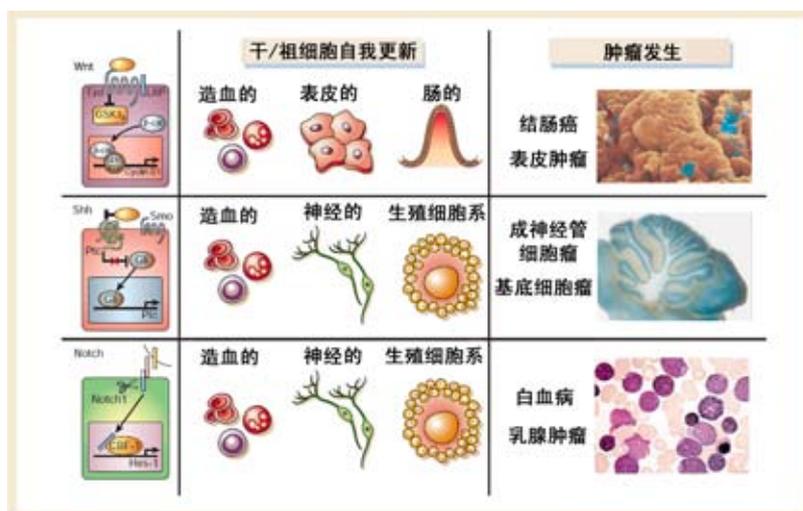


图12 Wnt、SHh及Notch信号通路与肿瘤发生。

图片来源: Tannishtha Reya, Sean J. Morrison, Michael F. Clarke, et al. (2001) Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414: 105-111.

## 2. 靶向Wnt/ $\beta$ -catenin通路治疗肿瘤干细胞

本专题第三部分介绍了Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路。在胚胎形成时期，Wnt蛋白在细胞发育的多个阶段影响细胞命运，进而影响多种器官系统（包括心血管系统、中枢神经细胞、肾及肺等）的发生、发展等。在成人中，Wnt信号通路在组织自我更新中起着关键作用，尤其是在肠隐窝、毛囊以及骨生长板中发挥重要作用。Wnt信号通路功能缺失或者高表达对多种器官系统都有严重影响。此外，Wnt信号通路在各种类型的肿瘤中都处于激活状态，这些肿瘤包括结肠癌、AML、CML、多发性骨髓瘤及肝细胞癌等。Wnt激活后通过促进肿瘤细胞迁移侵袭，加剧肿瘤的转移，与肿瘤干细胞活性息息相关。特别是在具有侵袭性皮肤癌的肿瘤干细胞中， $\beta$ -catenin信号是起着关键作用的。因此在目前的治疗中，我们希望能抑制Wnt通路。

如图13所示，抑制Wnt通路的策略有很多。例如，Wnt蛋白需要通过棕榈酰化才能发挥作用，那么抑制这一过程就可以阻止Wnt信号。另外，完整的Wnt蛋白需要与Fz蛋白结合引起进一步的反应，那么如果Wnt蛋白的相似物拥有比Wnt蛋白更高的亲和力，就能竞争性结合Fz，使Wnt不能很好地与Fz结合进而阻断Wnt通路。同样的道理，LRP的抑制剂破坏“APC-Axin-GSK3 $\beta$ 复合物”，使其不能降解 $\beta$ -catenin也能达到同样的效果。

目前已经有多种可抑制Wnt信号通路的小分子值得关注（表2）。Chen等人在2009年找到两个可以抑制Wnt信号通路的小分子系列，第一种作用于酰基转移酶，这个酶在Wnt的形成过程中起重要作用；第二种可以稳定Axin，从而稳定“APC-Axin-GSK3 $\beta$ 复合物”。另外，化学基因组学研究所（Institute for Chemical Genomics）的ICG-001（结构见图14）则可以通过阻断 $\beta$ -catenin与转录辅助因子环腺苷酸的结合，进而抑制Wnt通路。而其它诸如Wnt的单克隆抗体、可溶性Wnt受体抗体（诱骗受体）及Fz受体抗体等都展现了一定的潜力。遗憾的是，目前并没有上市的分子，甚至缺少小分子抑制剂，因此研发人员还需要不断努力。

表2 有潜力的Wnt通路抑制剂

在研发的分子	靶点	作用机制
Wnt单克隆抗体、可溶性Wnt受体抗体（诱骗受体）	Wnt配体	与Wnt结合
Fz受体抗体	Fz受体	抑制Wnt与Fz结合
NSC668036、FJ9	Disheveled的PDZ域	抑制Disheveled的PDZ域，稳定 $\beta$ -catenin降解复合体
噻唑烷二酮类	$\beta$ -catenin	使 $\beta$ -catenin从核中转出
PNU-74654、ICG-001、NSAIDs，如Cox2 inhibitor	$\beta$ -catenin	抑制蛋白蛋白相互作用，降低 $\beta$ -catenin依赖的基因的表达
Av65、人造 F-box 蛋白、舒林酸	蛋白降解过程	未知
抑制Wnt的反应的分子	Axin2	与Axin2相互作用稳定Axin，使 $\beta$ -catenin降解复合体更稳定
抑制Wnt蛋白产生的分子		抑制Wnt的分泌

资料来源: Takebe, N., P. J. Harris, Ronald Q. Warren, et al. (2010) Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nature reviews Clinical oncology*, 8(2):97-106.

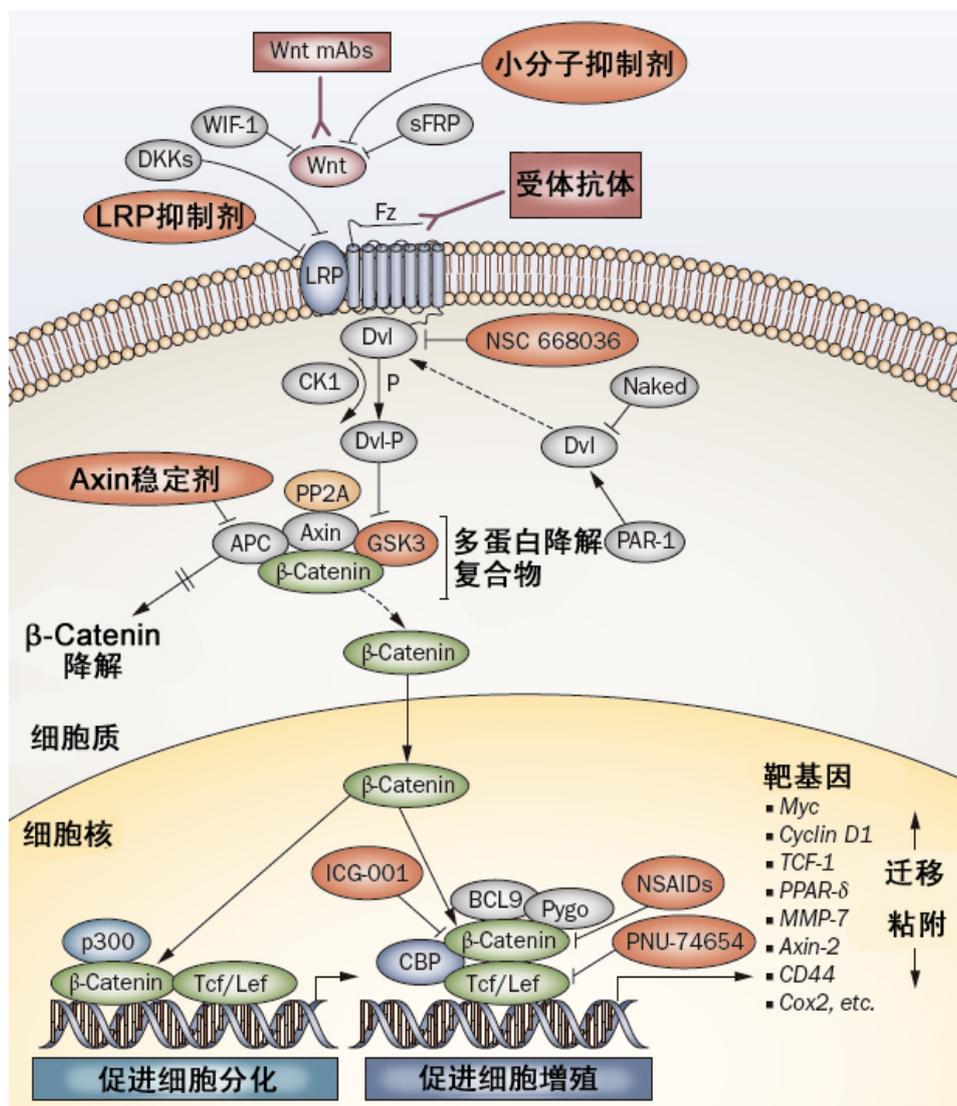


图13 抑制Wnt/β-catenin通路。mABs: 单克隆抗体。

图片来源: Takebe, N., P. J. Harris, Ronald Q. Warren, et al. (2010) Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nature reviews Clinical oncology*, 8(2): 97-106.

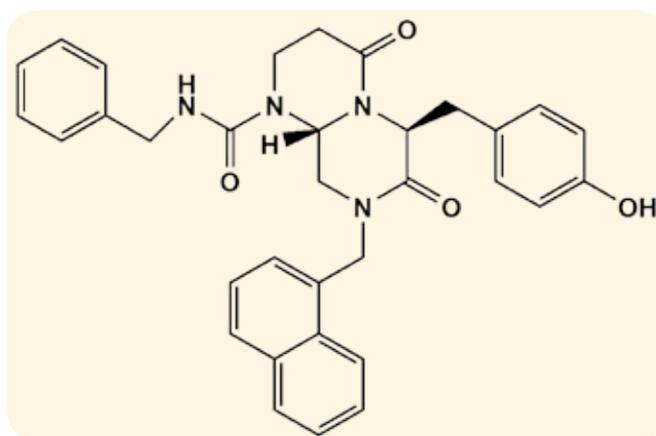


图14 ICG-001的结构。

### 3. 靶向Hedgehog通路治疗肿瘤干细胞

Hedgehog信号的异常激活、突变以及失调与多种肿瘤的发生有关，特别是在基底细胞癌中，Hh信号通路发挥着关键作用。目前已经上市的唯一针对肿瘤干细胞的药物就是针对Hh信号的，用于治疗基底细胞癌。关于这个药物，会在这一部分第6小节（靶向肿瘤干细胞的上市药物与潜力分子）做详细介绍。除此以外，在乳腺癌中，SHh信号通路的下游靶标Bmi-1的高表达，在乳腺癌肿瘤干细胞的自我更新中发挥着重要作用。Hh信号通路在维持CML的肿瘤干细胞方面也起到重要作用；而Hh信号通路的抑制剂环巴胺可以抑制胰腺癌的EMT与转移，为这个目前来说极难进行治疗的肿瘤的治疗带来了希望。因此，与Wnt信号通路一样，我们希望通过抑制Hh信号通路达到治疗的目的。

如图15所示，抑制Hh信号通路的策略相对Wnt较少，总体来说可以分为三类：一类是Hedgehog蛋白的拮抗剂，它通过与Hedgehog蛋白结合使其不能与细胞膜上的受体相互作用，从而达到抑制的目的；第二类是Smo蛋白的拮抗剂，它通过抑制Smo蛋白阻断Hh信号向下游传导，进而达到抑制的目的；第三类是Gli的拮抗剂，直接作用于Gli使其不能进入细胞核发挥其作用，从而抑制Hh信号通路。虽然种类少，但是都取得了不错的进展，下面来介绍一些比较受关注的Hh信号通路抑制剂（表3）。

Robonikinin（化学结构见图16）就属于第一类Hh信号通路小分子抑制剂，它可以与细胞外的SHh蛋白结合。

环巴胺（Cyclopamin, 11-deoxojervine）（结构见图16）是最早被发现的Hh信号通路选择性抑制剂。它是一种天然产物，属于甾体生物碱，其作用机制是能与Smo蛋白结合使其失活，属于第二类Hh信号通路抑制剂。环巴胺被大量应用于临床前实验。需要注意的是，细胞如果缺少Smo受体活性将进入程序性凋亡，因此需要注意是否产生脱靶效应（“off-target” effect）。除环巴胺外，还有不少人工合成的Smo蛋白拮抗剂目前也取得了不错的结果。首先，如IPI-926，从其结构可以看出它是环巴胺的衍生物，这个分子由无限制药公司（infinity Pharmaceuticals）研发，目前也在继续进行一系列的研究，包括针对转移性胰腺癌的临床研究。而Smo蛋白小分子抑制剂中最值得关注的当属GDC-0449，又名Vismodegib，目前已经上市，用于基底瘤的治疗，商品名为Erivedge，由基因泰克公司（Genentech）研发。除它之外，还有一些其它小分子抑制剂目前也已经进入临床，如BMS-833923。这个分子由百时美施贵宝公司（Bristol-myers squibb）和Exelixis公司共同研发，针对晚期或转移性实体瘤，同时研究人员也在尝试将其与其它药物，如来那度胺（Lenalidomide）及地塞米松（dexamethasone）等进行联合治疗。PF-04449913由辉瑞（Pfizer）公司主持研发，目前也已经进行临床实验，针对CML等进行治疗。LDE225则由诺华（Novartis）主持研发，与PF-04449913不同，这个分子瞄准了实体瘤。

HPI1-4这个系列属于第三类Hh信号通路抑制剂。在Smo活化后，HPI-1可以抑制Gli1/2的活化，HPI-2和HPI-3抑制Gli2的活化，而HPI-4则能抑制纤毛（cilia）的形成。

从上面的信息可以看出，目前许多制药企业都在对Hh信号通路进行研究，并且都取得了可喜的成果，但是，还需努力。

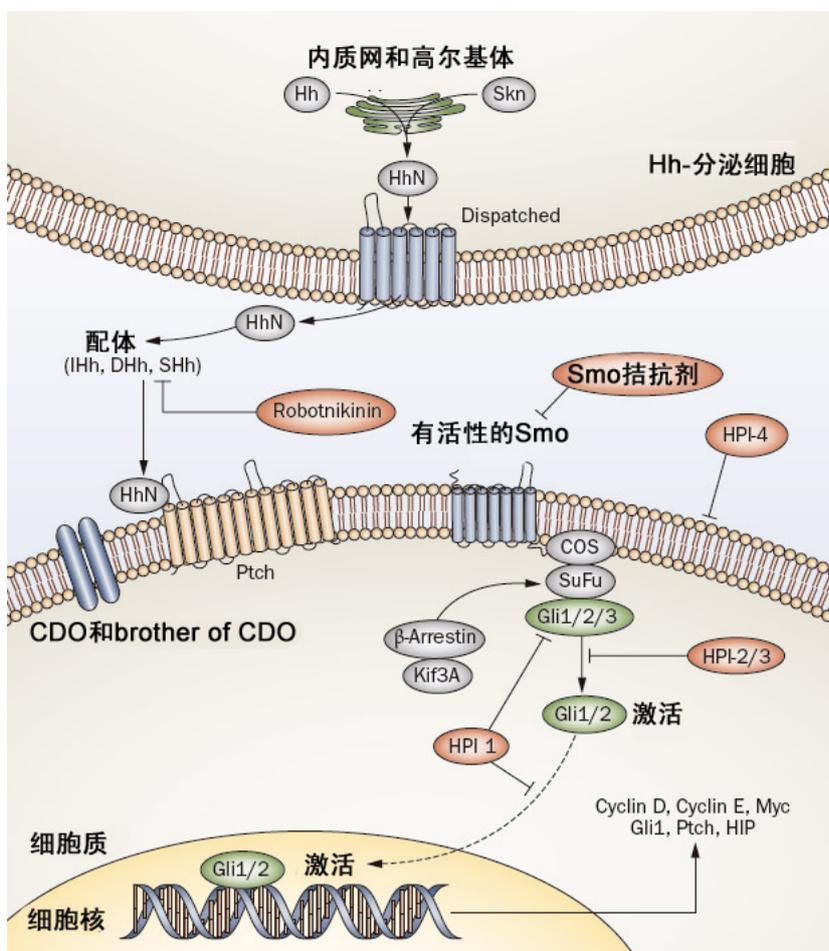


图15 抑制Hedgehog信号通路。

图片来源: Takebe, N., P. J. Harris, Ronald Q. Warren, et al. (2010) Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nature reviews Clinical oncology*, 8(2): 97-106.

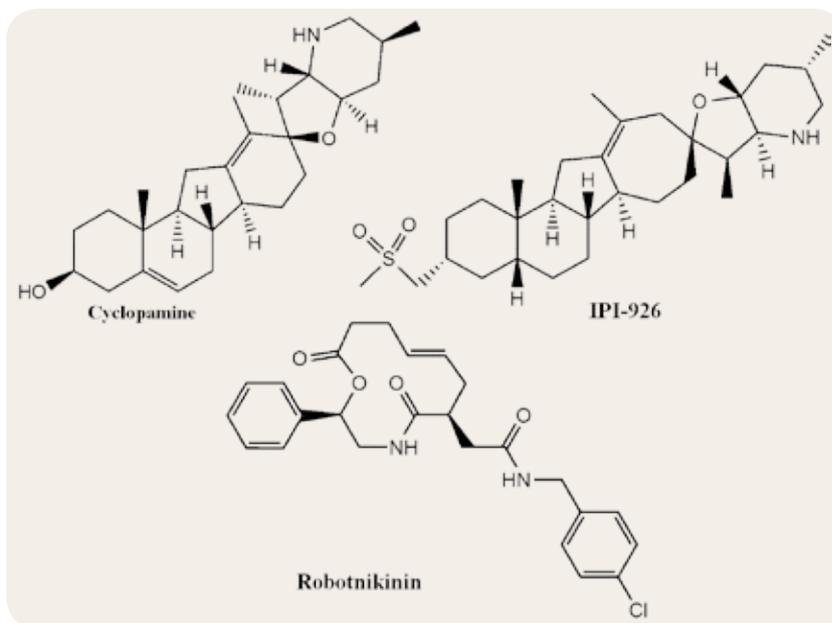


图16 几个重要Hh信号通路抑制剂。

表3 有潜力的Hedgehog信号通路抑制剂

在研发的分子	靶点	作用机制
环巴胺	Smo	拮抗剂
IPI-926	Smo	拮抗剂
GDC-0449	Smo	拮抗剂
BMS-833923	Smo	拮抗剂
Robotnikinin	细胞外的sHh	抑制sHh
PF-04449913	Smo	拮抗剂
LDE225	Smo	拮抗剂
HPI 1-4	Gli1/2 (HPI-1)、 Gli2 (HPI-2和HPI-3)、Cilia (HPI-4)	拮抗剂

资料来源: Takebe, N., P. J. Harris, Ronald Q. Warren, et al. (2010) Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nature reviews Clinical oncology*, 8(2):97-106.

#### 4. 靶向Notch通路治疗肿瘤干细胞

Notch信号通路主要影响细胞与细胞之间的信号交流,进而影响细胞增殖、分化以及凋亡。

对Notch信号通路的抑制策略可分为4类(图17):第一类是Notch的可溶性诱骗受体诱骗Notch配体与其结合从而阻断Notch信号;第二类抑制剂作用于 $\gamma$ -分泌酶( $\gamma$ -Secretase),通过抑制或改变 $\gamma$ -分泌酶的结构使其不能裂解Notch蛋白从而达到抑制的目的;第三类是MAML1抑制剂,通过抑制MAML1使Notch靶基因不能表达进而抑制Notch信号通路。遗憾的是,目前还没有小分子抑制剂;第四类最为直接,使用小分子干扰RNA直接抑制Notch靶基因的表达。在这里,我们重点介绍Notch信号通路的小分子抑制剂,这一类抑制剂主要都是第二类,作用于 $\gamma$ -分泌酶。

$\gamma$ -分泌酶抑制的研究也引起了各大制药公司的兴趣,也取得了可喜的进展。MK0725(分子结构见图18)由默克(Merck)公司主持研发。MK0725最初应用于T细胞急性淋巴瘤,但由于其胃肠道杯状细胞畸形生长以及腹泻等副作用而中止,目前该药正在尝试与其它药物联合使用以降低其副作用。RO4929097(分子结构见图18)则是由罗氏(Roche)主持研发,其IC50为4nM,活性非常高,目前也在进行多项临床I/II期实验,主要针对实体瘤。PF-03084014、LY450139和BMS-708163则分别属于辉瑞、礼来和百时美施贵宝公司,目前也都在进行临床I/II期实验(表4)。

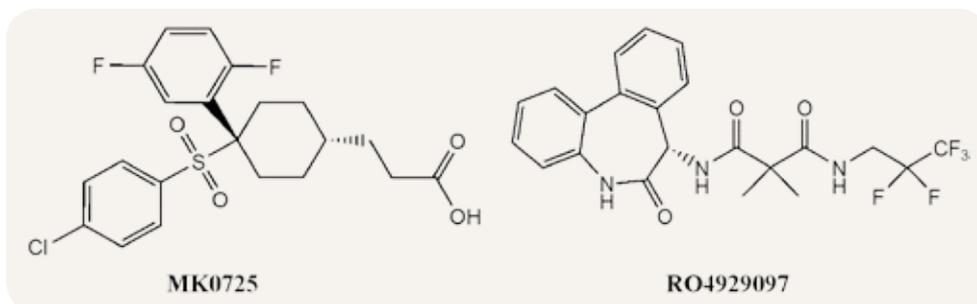


图18 已知的两种Notch通路抑制剂的结构。

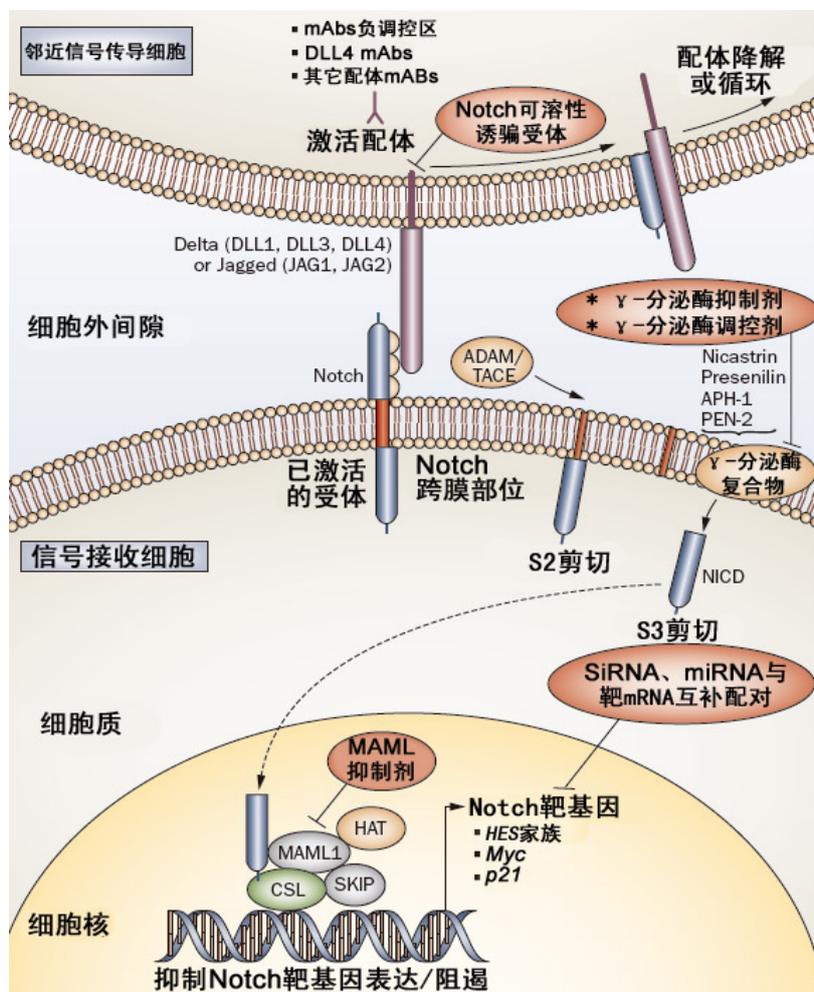


图17 抑制Notch信号通路。

图片来源: Takebe, N., P. J. Harris, Ronald Q. Warren, et al. (2010) Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nature reviews Clinical oncology*, 8(2): 97-106.

表4 有潜力的Notch信号通路抑制剂

在研发的分子	靶点	作用机制
γ-分泌酶抑制剂: MK0752、RO4929097、 PF-03084014、LY450139、 BMS-708163	Notch类似物、Notch配体及其它 γ-分泌酶底物	抑制Notch被γ-分泌酶裂解
修改γ-分泌酶: MPC-7869	γ-分泌酶底物	抑制Notch被γ-分泌酶裂解
MAML1抑制剂: MAML-CSL-Notch	MAML1	阻碍Notch与MAML1相互作用
Notch抗体	Notch	作用于Notch阻碍其裂解
DLL4抗体	特异性针对DLL4	阻碍受体与配体相互作用
Notch可溶性诱骗受体	与Notch结合	阻碍受体与配体相互作用

资料来源: Takebe, N., P. J. Harris, Ronald Q. Warren, et al. (2010) Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nature reviews Clinical oncology*, 8(2): 97-106.

## 5. 其它治疗策略

除了上面提到的三条重要通路外，治疗肿瘤干细胞并不仅仅局限在这三条通路，还有其它许多靶点与其它治疗策略，在这里就简单介绍几个近来被报道的靶点与其它治疗策略。

### 5.1 TAK1与KRAS-依赖的结肠癌细胞

TAK1 (TGF- $\beta$  activated kinase或MAP3K7-binding protein7) 是一种激酶，它参与调节各种细胞活动的信号蛋白。美国波士顿大学医学院药理学和实验疗法部助理教授Anurag Singh博士在芝加哥召开的美国癌症研究年会上公布了他最近有关靶向治疗结肠癌的工作进展。相关研究论文已发表在今年4月的《细胞》(Cell)杂志上。

结肠癌是一种常见的肿瘤，其中一半以上的病人的肿瘤中有KRAS基因突变。KRAS基因突变是结肠癌患者中最为常见的突变，而针对这一突变的治疗是目前肿瘤治疗的一大难点，至今仍未取得任何有价值的成果。KRAS基因突变的患者通常都面临非常有限的治疗选择，并且临床预后很差。

在结肠癌中，有许多基因异常表达。Singh等人在寻找KRAS基因突变的结肠癌中异常表达的基因的过程中，发现了一个过度激活的基因，即MAP3K7基因。这个基因编码TAK1蛋白，该蛋白是致使结肠癌病情恶化的一大推手。在KRAS-依赖的结肠癌细胞中，KRAS刺激BMP-7的分泌加强了BMP信号，导致TAK1活化并增强了Wnt信号（作用机制见图19）。虽然该论文并未明确提出肿瘤干细胞，但是TAK1是连接BMP信号通路与Wnt信号通路的关键激酶，这两种通路又都是肿瘤干细胞中非常关键的通路，因此很值得关注与研究。通过实验发现，使用小分子抑制剂5z-7-Oxo抑制TAK1蛋白可以杀死KRAS基因突变的肿瘤细胞，而对正常非突变的细胞影响很小。

TAK1作为一个激酶，比起其它种类的蛋白，三维结构更加保守，也更易于发现抑制剂。目前已经上市的多种替尼类抗肿瘤药物均为激酶抑制剂，可以说TAK1的发现使得KRAS基因突变的结肠癌的治疗更有希望获得成功，使用TAK1激酶抑制剂有可能为侵略性的KRAS基因突变的结肠癌患者提供“个性化”医学治疗。研究人员目前正努力测试TAK1蛋白抑制剂的临床疗效。

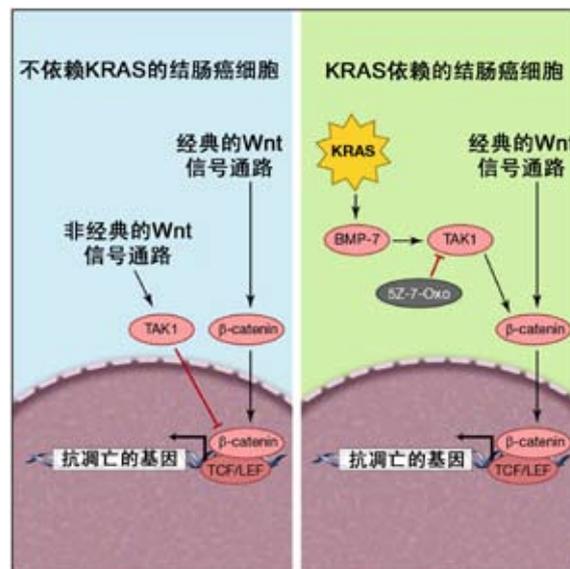


图19 通过抑制TAK1促进KRAS-依赖的结肠癌细胞凋亡。

图片来源: [http://www.cell.com/abstract/S0092-8674\(12\)00102-X](http://www.cell.com/abstract/S0092-8674(12)00102-X)

## 5.2 LSD1——多种肿瘤干细胞治疗靶点

LSD1是一种组蛋白去甲基酶，它作用于组蛋白H3特异性赖氨酸残基从而改变染色体DNA上的基因转录。LSD1蛋白包含一个位于氨基末端的SWIRM结构域、一个特殊的双螺旋（coiled-coil）塔结构和一个含FAD的胺氧化酶结构域。LSD1可使胚胎干细胞分化为其它类型的细胞，关于其作用机制的研究发表在今天的《自然》（*Nature*）杂志上。

LSD1与多种肿瘤干细胞相关。今年，由香港理工大学、北京大学深圳研究生院和美国内华达癌症研究所（Nevada Cancer Institute）联合研发出了一类新的、特异地靶向肿瘤干细胞的LSD1抑制物，这类抑制剂由9种结构类似的化合物组成。这些抑制剂在体外实验中能够抑制LSD1的酶活性。抑制剂当中最有效的是CBB1003和CBB1007。这项研究表明，LSD1的抑制剂能够被用于治疗恶性生殖细胞瘤，如畸胎瘤、胚胎瘤（embryonic carcinoma）、精原细胞瘤、绒毛膜瘤和卵黄囊瘤等。这些肿瘤都是经手术治疗效果不佳或对顺铂（cis-platinum）耐药。迄今为止，LSD1抑制剂对这些具有干细胞性质的多潜能性癌细胞效果良好。因为畸胎瘤/胚胎瘤是多潜能性癌干细胞，研究人员将会研究其它器官特异性的癌症，如乳腺癌、卵巢癌、肺癌和脑癌的癌干细胞是否也对LSD1抑制物敏感。进一步研究表明LSD1抑制剂也能够被用来抑制很多癌干细胞样细胞，诸如乳腺癌和卵巢癌的细胞。同时，还有研究显示，LSD1的过表达促进了非小细胞肺癌肿瘤细胞的增生、迁移和入侵，与其不良预后有关。如果使用siRNA或者化学抑制剂（如巴吉林，一种单胺氧化酶抑制剂，抗高血压药）来干扰LSD1，则可抑制A549、H460及293T细胞的增生、迁移及入侵。

## 6. 靶向肿瘤干细胞的上市药物与潜力分子

上面提到的所有小分子中，有的已经进入临床实验，有的还在进行临床前研究。值得庆幸的是，已经有了经FDA批准上市的小分子药物，下面将就这个分子进行介绍，并就近来颇受关注的另一个有望在近两年获得批准的小分子药物BBI606作简单介绍。

### 6.1 GDC-0449——晚期基底瘤患者的救命药

GDC-0449又名Vismodegib，它是一个靶向Hedgehog信号通路的小分子抑制剂，于今年1月获得美国食品药品监督管理局（FDA）批准上市，商品名为Erivedge，用于治疗基底癌（basal cell carcinoma, BCC）。

BCC是非常常见的一类皮肤癌，主要由过度暴露于紫外线引起。虽然大部分的病人可通过手术进行治疗，但如果已经进展到晚期，BCC将不可切除，而且发生转移的可能性很高，那么BCC将难以用手术进行治疗，并可能威胁到患者的生命。BCC与Hh信号通路的异常表达有关（图20）。多数患有BCC的病人，例如具有戈林综合症（Gorlin syndrome）的病人体内都有使PTCH1失活的突变。PTCH1失活使其不能有效抑制Smo蛋白从而使Hh信号通路持续激活。同样，Hh信号通路也在其它肿瘤，如胰腺癌、结肠癌、前列腺癌以及卵巢癌中高表达。

Vismodegib是通过高通量筛选和先导化合物优化得到的Smo蛋白拮抗剂，相比环巴胺，具有更好的效能、更适宜的药物性质，在临床前研究中展现出了良好的活性。

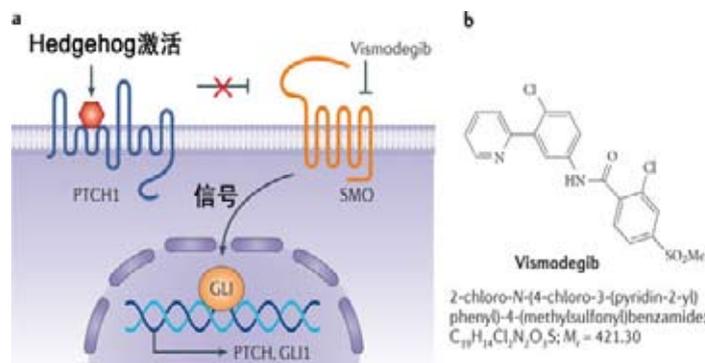


图20 Hedgehog信号通路与Vismodegib。

图片来源: Andrzej Dlugosz, Sid Agrawal & Peter Kirkpatrick. (2012) Vismodegib. *Nature Reviews Drug Discovery*, 11: 437-438.

Vismodegib上市以来也得到了很好的应用，同时也在继续进行临床实验。根据6月6日《新英格兰医学杂志》(NEJM)发表的两项关于Vismodegib的小型早期研究结果显示，Vismodegib可有效治疗基底细胞癌综合征和晚期基底细胞癌(BCC)。第一项研究是针对局部晚期和转移性BCC进行的，它采用的是多中心、非随机及双队列试验。对33例转移性BCC患者和63例局部晚期BCC患者(均无法或不适宜接受手术)使用Vismodegib，结果显示，转移性BCC组的治疗应答率为30%，均为部分应答(定义为活检标本中未发现残余BCC)。局部晚期BCC组的治疗应答率为43%，63例患者中有13例获得完全应答，应答的中位持续时间为7.6个月。半数患者早期停药，18%的转移性BCC患者由于疾病进展而中止治疗。25%的局部进展期患者自行决定停药，原因不详。几乎所有患者均有不良反应，主要为肌肉痉挛、体重下降、疲乏和食欲不振。1/4的患者报告发生严重不良反应，7例患者死亡，但目前还不清楚是否与Vismodegib有关。

第二项研究针对基底细胞癌综合征，采用随机、双盲及安慰剂对照试验。这次实验纳入了41例基底细胞癌综合征患者，结果显示与安慰剂组相比，Vismodegib组新发可手术BCC病灶的患者数远远低于安慰剂组：2例vs. 29例。Vismodegib组患者的既有癌症病灶缩小65%，而安慰剂组仅为11%。Vismodegib组患者也较少接受手术：0.31次/例vs.4.4次/例。治疗1个月时，hedgehog目标基因表达水平下降90%。在从被判定为临床逆转的病灶提取的活检标本中，83%无残余癌细胞。这次实验获得了巨大的成功，Vismodegib不仅可以使BCC肿瘤缩小，还可以阻止新发BCC。但是同样的，这次实验中，不良反应也比较严重。

虽然有严重的不良反应，但是也不能忽视Vismodegib产生的良好治疗结果。对于肿瘤病人来说，“不要低估局部控制对于改善生活质量的意义”。Vismodegib取得的巨大成功也为肿瘤治疗带来了希望。当然，研究还需要继续，上述研究带来的另一个问题是，虽然能有效抑制hedgehog通路，但是否能够彻底清除BCC、会不会有残余癌细胞以及是否可能引起复发等一系列问题都需要开展随访研究。

#### 补充阅读2：戈林综合症 (Gorlin syndrome)

戈林综合症，又被称为痣样基底瘤综合症(nevoid basal cell carcinoma syndrome)，患有这种症状的病人皮肤大面积受到影响，也容易引发多种肿瘤。戈林综合症在基底瘤中最为常见。

## 6.2 BBI608——最值得期待的靶向肿瘤干细胞药物

每天有数以万计的实验药物正在进行各个阶段的临床试验，其中最大的一类是癌症治疗药物，然而每年上市的药物是极少的。在今年FierceBiotech关于肿瘤药品的报道中提到了一个鲜为人知的药物——BBI608，这是一个靶向肿瘤干细胞的药物。BBI608由波士顿生物技术公司（Boston Biomedical）研发，目前这个公司已经被大日本住友制药（Dainippon Sumitomo）以26.3亿美元收购。

在迄今为止的临床试验中，BBI608展示了卓越的安全性、良好的药代动力以及振奋人心的抗肿瘤活性，而且可用于治疗多种肿瘤。BBI608是同类首个针对高度恶性癌干细胞和其它各种癌细胞的口服小分子抗癌药物，主要适应症是大肠癌，目前该药正在进行治疗结肠癌和直肠癌的III期研究。但是，波士顿生物医学和大日本住友并未公开BBI608的确切分子靶点，前者称该药物能同时抑制多个关键的癌细胞“干性”途径，可以直接作用于恶性癌症干细胞和成熟的癌症细胞。遗憾的是，目前似乎并没有关于这个药物临床试验的公开数据。尽管如此，这个药物仍然是目前最值得期待的针对肿瘤干细胞的药物。如果能上市，能为不少肿瘤病人带来希望，同时也给予研究人员更大的信心。

### 补充阅读3：FierceBiotech

FierceBiotech是一家有名的资讯公司，专注于生物技术与药品研发，去年FierceBiotech选取的10个晚期临床阶段药物中，有4个最终获得了FDA的批准：西雅图遗传学（Seattle Genetics）的Adcetris（brentuximab vedotin）、辉瑞（Pfizer）的Xalkori（克唑替尼，crizotinib）、Plexxikon的Zelboraf（vemurafenib，之前的代号名为PLX4032）和罗氏（Roche）的Erivedge（Vismodegib）。其余6个药物正在寻求监管部门的批准。

# 百态·频道

# www.LifeOmics.com



## 六、展望

肿瘤干细胞这两年的发展非常迅速。几乎每一天都有新的发现被报道，无数科学家投入了极大的热情。鉴于此，很多观念也在不断更新中，例如，最初观念认为只有肿瘤干细胞才具有强致瘤性，但是后来也有研究表明，并非如此。普遍认为，在乳腺癌中，只有基底样细胞具有干细胞特性，可以形成侵入性肿瘤，但在今年的《美国科学院院报》（*PNAS*）上，Kim等人发现，在乳腺中，无可检测的干细胞特性的导管样细胞同样具有强致瘤性、高侵袭性，能产生更巨大的肿瘤。

对肿瘤干细胞中的信号通路的认识，包括单条通路（如Wnt信号通路中主要成分的功能），也包括多种通路之间的相互作用也在不断的完善中。例如，由于Wnt信号激活后可通过促进肿瘤细胞的迁移侵袭而加剧肿瘤的转移，并在多种肿瘤中高表达，因此人们希望通过抑制Wnt信号通路实现抑制肿瘤的目的。但是最近有研究表明，在黑色素瘤中，Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路虽然也处于激活状态，但其细胞核内 $\beta$ -catenin的存在似乎并不与这些肿瘤的侵袭性相关。该研究发现，与其它肿瘤不同， $\beta$ -catenin信号会导致黑色素细胞的迁移下降，这与在其它类型肿瘤中起到的促进肿瘤细胞的迁移侵袭的作用相反，且体内实验中也取得了相同的结果—— $\beta$ -catenin信号降低黑素细胞的迁移。 $\beta$ -catenin的抑制迁移作用依赖于MITF-M和CSK，前者是黑色素细胞的关键转录因子，后者是一个Src抑制剂。尽管 $\beta$ -catenin信号通路在黑色素瘤中能减少迁移，但在NRas诱导的黑色素瘤小鼠模型中却促进肺转移。这个研究表明， $\beta$ -catenin在黑色素瘤中起着看似矛盾的作用，一方面促进其转移，一方面又抑制其迁移。这样的结果同时也说明，我们对这些信号通路作用的认识并不完善，而仅仅是肿瘤转移这一项“行动”就与多种细胞内进程有关，仅仅关注其中一点显然是不合理的。

对于肿瘤干细胞的治疗也不仅仅局限在上面提到的内容，还有其它的一些治疗策略同样可以引起我们的重视。例如，可以针对肿瘤干细胞微环境进行治疗，肿瘤干细胞微环境对肿瘤干细胞的自我更新起着重要的作用。还可以通过改变干细胞的微环境达到诱导肿瘤干细胞凋亡或杀死肿瘤干细胞的目的。如在神经系统肿瘤中，CSC存在于微血管丰富的微环境中，扰乱这种微环境可能靶向肿瘤干细胞。有研究表明，使用厄洛替尼（Erlotinib，选择性的EGFR和ERBB2酪氨酸激酶抑制剂）或贝伐单抗（Bevacizumab，商品名阿瓦斯汀，抗VEGF的单克隆抗体）处理肿瘤后，肿瘤微环境中的微血管的密度下降，而且肿瘤干细胞的数目也明显降低了，这说明肿瘤微环境的改变同样可以影响，甚至杀死肿瘤干细胞。

目前对于肿瘤干细胞的研究日新月异，虽然已经取得了很大的进展，例如已经证明了肿瘤干细胞的存在，但是仍然需要研究人员不断努力获取突破。在未来的研究中，主要研究方向包括，确定肿瘤干细胞模型并确定其表面标记、研究建立肿瘤干细胞模型的方法、研究肿瘤干细胞细胞内信号调控机制、探索肿瘤干细胞在肿瘤发生和发展过程中的作用，以及探寻肿瘤干细胞在肿瘤治疗中的应用。

肿瘤干细胞目前为肿瘤治疗提供了新的方向，新的道路已然展现在眼前，“路虽远，行则至”。

## 主要参考文献

1. 窦骏. (2009). 肿瘤干细胞. 东南大学出版社.
2. Andrzej Dlugosz, Sid Agrawal & Peter Kirkpatrick. (2012) Vismodegib. *Nature Reviews Drug Discovery*, 11: 437-438.
3. Antonio Pannuti, Kimberly Foreman, Paola Rizzo, et al. (2010) Targeting Notch to Target Cancer Stem Cells. *Clin Cancer Res*, 16(12): 3141-3152.
4. Bjerkvig, R., B. B. Tysnes, et al. (2005) The origin of the cancer stem cell: current controversies and new insights. *Nature Reviews Cancer*, 5(11): 899-904.
5. Catherine E. Symonds, Umberto Galderisi, Antonio Giordano. (2009) Aging of the inceptive cellular population: The relationship between stem cells and aging. *AGING*, 1(4): 372-381.
6. Chen J, Li Y, et al. (2012) A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature*, 488(7412): 522-526.
7. Clevers, H. (2006) Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in development and disease. *Cell*, 127(3): 469-480.
8. de Sousa, E. M. F., L. Vermeulen, et al. (2011) Targeting Wnt signaling in colon cancer stem cells. *Clin Cancer Res*, 17(4): 647-653.
9. Driessens G, Beck B, et al. (2012) Defining the mode of tumour growth by clonal analysis. *Nature*, 488(7412): 527-530.
10. Eileen M. Shore & Frederick S. Kaplan. (2010) Inherited human diseases of heterotopic bone formation. *Nature Reviews Rheumatology*, 6: 518-527.
11. Feldmann, G., V. Fendrich, et al. (2008) An orally bioavailable small-molecule inhibitor of Hedgehog signaling inhibits tumor initiation and metastasis in pancreatic cancer. *Molecular cancer therapeutics*, 7(9): 2725.
12. Gautam K. Malhotra, Xiangshan Zhao, Hamid Band, et al. (2011) Shared signaling pathways in normal and breast cancer stem cells. *J Carcinog*, 10:38.
13. Kai Liu & Sheng Ding. (2012) Target Practice: Modeling Tumors with Stem Cells. *Cell*, 149(6): 1185-1187.
14. Lear, J. T. (2012) Oral Hedgehog-Pathway Inhibitors for Basal-Cell Carcinoma. *The New England journal of medicine*, 366(23): 2225-2226.
15. Long V. Nguyen, Robert Vanner, Peter Dirks and Connie J. Eaves. (2012) Cancer stem cells: an evolving concept. *Nature Reviews Cancer*, 12: 133-143.
16. Malanchi, I., A. Santamaria-Martínez, et al. (2011) Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization. *Nature*, 481(7379): 85-89.
17. Malhotra, G. K., X. Zhao, et al. (2011) Shared signaling pathways in normal and breast cancer stem cells. *Journal of carcinogenesis*, 10(1): 38.
18. Muller, J. M., L. Chevrier, et al. (2008) Hedgehog, Notch and Wnt developmental pathways as targets for anti-cancer drugs. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 4(4): 285-291.
19. Rizzo, P., C. Osipo, et al. (2008) Rational targeting of Notch signaling in cancer. *Oncogene*, 27(38): 5124-5131.
20. Robarge, K. D., S. A. Brunton, et al. (2009) GDC-0449—A potent inhibitor of the hedgehog pathway. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19(19): 5576-5581.
21. Sachlos, E., R. M. Risueño, et al. (2012) Identification of Drugs Including a Dopamine Receptor Antagonist that Selectively Target Cancer Stem Cells. *Cell*, 149(6): 1284-1297.
22. Schepers AG, Snippert HJ, et al. (2012) Lineage Tracing Reveals Lgr5+ Stem Cell Activity in Mouse Intestinal Adenomas. *Science*, 337(6095): 730-735.
23. Singh, A., M. F. Sweeney, et al. (2012) TAK1 Inhibition Promotes Apoptosis in KRAS-Dependent Colon Cancers. *Cell*, 148(4): 639-650.
24. Takebe, N., P. J. Harris, Ronald Q. Warren, et al. (2010) Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nature reviews Clinical oncology*, 8(2): 97-106.
25. Tang, J. Y., J. M. Mackay-Wiggan, et al. (2012) Inhibiting the hedgehog pathway in patients with the basal-cell nevus syndrome. *New England Journal of Medicine*, 366(23): 2180-2188.
26. Tannishtha Reya, Sean J. Morrison, Michael F. Clarke, et al. (2001) Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414: 105-111.
27. Vermeulen, L., F. de Sousa e Melo, et al. (2012) The developing cancer stem-cell model: clinical challenges and opportunities. *The Lancet Oncology*, 13(2): e83-e89.
28. Wang, J., F. Lu, et al. (2011) Novel Histone Demethylase LSD1 Inhibitors Selectively Target Cancer Cells with Pluripotent Stem Cell Properties. *Cancer research*, 71(23): 7238-7249.
29. Whyte, W. A., S. Bilodeau, et al. (2012) Enhancer decommissioning by LSD1 during embryonic stem cell differentiation. *Nature*, 482(7384): 221-225.
30. [http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Wnt\\_beta\\_Catenin.html](http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Wnt_beta_Catenin.html)
31. <http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Notch.html>
32. [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Signal\\_transduction\\_pathways.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Signal_transduction_pathways.svg)
33. <http://www.childrenshospital.org/gallery/index.cfm?G=67&page=3>
34. [http://www.cell.com/abstract/S0092-8674\(12\)00102-X](http://www.cell.com/abstract/S0092-8674(12)00102-X)

# 特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

## 岗位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划；对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

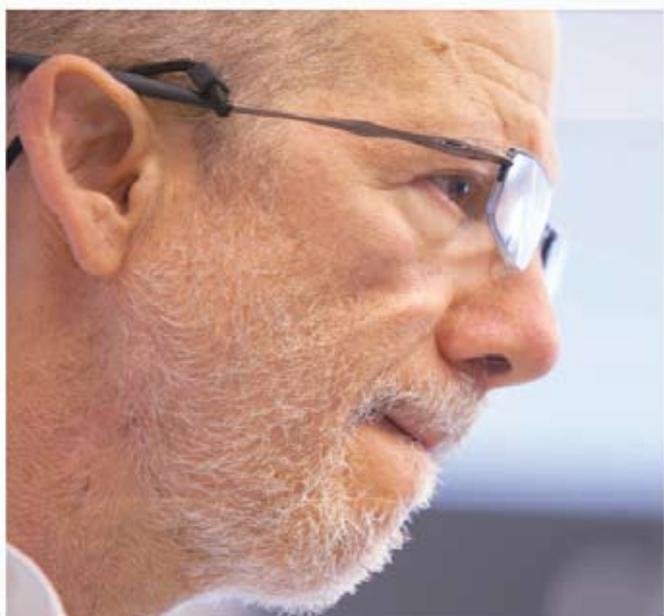
## 要求：

1. 具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
2. 具备良好的生命科学前沿触觉；
3. 具备较高的外文文献翻译、编译水平；
4. 具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
5. 具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 [editor@lifeomics.com](mailto:editor@lifeomics.com)

联系人：蔡小姐

# 记“另类”的肿瘤遗传学家 Bert Vogelstein



基因巫师。癌症基因研究传奇人物Bert Vogelstein因为发现了关键的致癌突变而开启了现代肿瘤遗传学研究的大门。

Bert Vogelstein和Kenneth Kinzler的实验室从事的是致癌基因方面的研究工作，不过他们对基因组医学（genomic medicine）一针见血式的评论有时也会让同事感觉不爽。

今年4月，一群从事癌症研究的科学家们来到美国芝加哥召开了一次癌症大会，会场上不时爆发出热烈的掌声，可是遗传学家Bert Vogelstein却已经准备好了一桶“冷水”。Vogelstein在新闻发布会上面对一屋子的听众毫不掩饰地表达了他的不同观点。他经研究后发现全基因组测序（whole-genome sequencing）这一重要的遗传学研究手段对预防癌症几乎起不到任何帮助作用。

Vogelstein的科研团队对同卵双胞胎进行了研究，他们想知道全基因组测序技术能够在多大程度上预测出这些双胞胎的患癌风险。在他们的研究模型中，大部分人都会得到阴性结果，因为遗传的突变是很少有机会致癌的。不过还是有三分之一的检测结果显示阴性的人最终会患上癌症，这主要是由环境因素或者坏运气造成的。

美国《纽约时报》（*The New York Times*）和其它一些媒体全文报道了Vogelstein的“泼冷水”事件。他的这番言论也惹恼了一些科学家，他们认为Vogelstein的研究是有问题的，而且并没有什么新发现。的确，之前也有持类似观点的文章发表，只不过当时并没有引起媒体的关注。但是Vogelstein表示，虽然有很多科学家对他们的这套观点并不陌生，可他们在研究工作中采用的是一套全新的模型，并且他们借助这个模型对个体基因组对公共健康的影响作用进行了定量的研究。Vogelstein还表示他希望让每一个人都知道最好的、并且唯一的防癌措施就是定期体检，并且遵循健康的生活方式。

很多同事都表示这篇文章是Vogelstein的典型风格，因为他一直就是一个反对者。长期担任《科学》（*Science*）杂志评审委员会委员的Vogelstein和他的合作伙伴Kenneth Kinzler在约翰霍普金斯大学医学院（Johns Hopkins University medical campus）里共同拥有一个实验室，他们的主要工作就是研究基因突变与致癌的关系，这为癌症遗传学研究打下了坚实的基础。其他科学家也在他们研究成果的激励下继续利用遗传学研究手段预测个体的患癌风险，开发个性化的抗癌药物和治疗手段。可是到了今天，Vogelstein却经常对这类工作表示出异议。比如最近他的科研团队就对一种号称能够明显缩小肿瘤组织体积的靶向药物提出了质疑，因为他们认为当耐药肿瘤细胞在整个肿瘤组织中占据优势之后，这款药物就会失效。

美国国家癌症研究所（U.S. National Cancer Institute, NCI）的癌症遗传学家Stephen Chanock如此评价Vogelstein，他认为Vogelstein看问题的角度总是很奇特，而且很有创造性。美国奥勒冈州健康与科学大学（Oregon Health & Science University）的肿瘤遗传学家Joe Gray也认为Vogelstein总是希望与众不同，总是希望迅速获胜。Gray猜测Vogelstein一定认为他自己的工作是在促进整个癌症遗传学研究领域更好地向前发展。但同时Gray强调，无论Vogelstein说什么，他都会认真倾听。

在过去的几年里，Vogelstein和Kinzler的研究方向已经从发现新的致癌基因转到一个不那么吸引人的课题，即开发用于常见癌症早期（癌症尚处于可以治愈阶段）诊断的遗传检测技术。这不是一项主流的科研工作。Vogelstein和Kinzler两人最近在他们位于美国马里兰州巴尔的摩（这里离Vogelstein的家乡不远）实验室的楼上接受采访时指出，他们一直以来都有关注如何治疗晚期癌症，哪怕只是给患者减轻几个月的痛苦也会被他们看作是莫大的成功。但是这些已经是‘过时’的研究方向。

现年63岁的Vogelstein个子不高，留着修剪得非常整齐的花白胡子，他为人傲慢，但是又非常幽默，接受采访时还是穿着他常穿的那条牛仔裤和白衬衣。而50岁的Kinzler则高高大大，看起来还像个小伙子，穿着一身卡其布服装。据Vogelstein介绍，他们的研究从来都不是为了解决一个让人好奇的生物学问题，他们只是想让街对面的肿瘤医院门可罗雀。

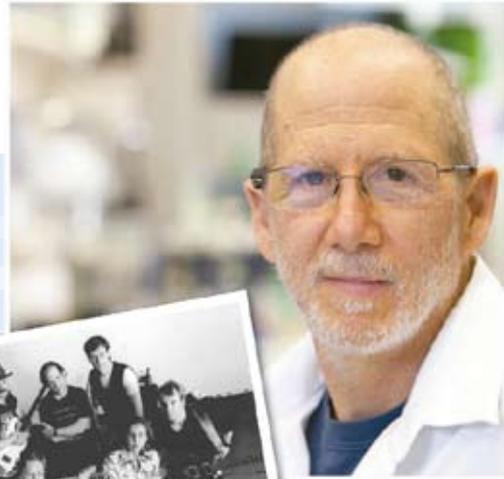
## 癌症基因

Vogelstein最开始在宾夕法尼亚大学（University of Pennsylvania）学习的是数学专业，之后进入约翰霍普金斯大学医学院继续学习，最后成为了一名儿科肿瘤医生。但是当一位身患白血病的四岁女孩的父母咨询Vogelstein为什么他们的女儿会得上这种病的时候，Vogelstein感受到了挫败感，因为他发现自己也不知道原因，所以他投身了科研事业。1989年时，Vogelstein从事结肠癌方面的研究。他们的研究团队发现突变的*TP53*基因并不像大家以为的那样是致癌基因，它反而是抑癌基因。因为*TP53*基因发生突变之后就失去了在癌症组织中的促癌功用。Vogelstein认为他那种以组成结构复杂的人类肿瘤组织，而不是单纯的细胞系或者动物模型为研究材料的科研方式可能是他为了一个基金连续向NCI申请3次才能获得成功的原因。

Vogelstein还在20世纪80年代末发现了结肠癌的进展机制，现在这条机制已经被教科书收录。Vogelstein和当时还是他们实验室的研究生Kinzler一起又发现某些基因里随着时间不断积累的突变最终会诱发细胞癌变。后来他们又陆续发现了一系列的结肠癌相关基因，所有这些研究都是以寻找人体肿瘤组织中的突变为起始的，因为他们的科研思路就是，如果某个基因与肿瘤的发生、发展有关，那么在肿瘤组织中它就很有可能会发生突变。而且他们还认为，试图通过研究基因功能来发现某个基因重要性的科研思路很容易得到错误的结论，因为能够改变疾病病程的基因突变并不一定就是致病突变。Vogelstein认为他们这种观点与其他大部分科学家都不一样。

Vogelstein和Kinzler的实验室里竞争气氛非常浓厚，所以他们组的成员都和他俩一样拼命。但是他们也非常注重娱乐，比如他们就在博士后的办公桌旁放了一张乒乓球台，而且他们实验室还会定期举办乒乓球赛和篮球赛。他们甚至还有一个自己的摇滚乐队——Wild Type乐队。Vogelstein担任乐队的键盘手，Kinzler是鼓手，负责作曲的也是一群肿瘤生物学家。他们实验室的成员还可以免费使用一栋海边别墅。而且他们实验室招聘博士后还有一个非常“诡异的”规定，那就是面试者在介绍自己的博士研究工作时一定要戴上Burger King皇冠（即纸质的玩具皇冠）。“如果你不愿意戴，那么你很有可能属于非常紧张的人，这就不太适合我们实验室的氛围。”之前曾经在Vogelstein实验室从事博士后研究，现在在美国马萨诸塞州生命科技公司（Life Technologies）工作的Devin Dressman介绍说。

Vogelstein和Kinzler很少会到各种会议上发言。他们更愿意呆在自己的实验室里做研究，不受那些所谓的“主流”观点的影响。但是这并不表示他们不关心最新的科研进展，Vogelstein会时刻关注最新的文献，从中了解最新的讯息。据Dressman介绍，在他认识的人里，没有人的文献阅读量可以超过Vogelstein。



彼时、此时。小图是Wild Type乐队鼎盛时期的照片，其中后排中间的是当年的Vogelstein，他右边的是Kinzler，大图是如今的Vogelstein。



## 针对肿瘤细胞的基因组项目

2003年，在人类基因组测序完成之后，全世界的肿瘤遗传学家们就开始筹划属于他们自己的癌症基因组项目。他们不仅要发现可能的致癌基因，还想进行更全面、更系统的癌症基因组测序研究，然后将这些肿瘤序列和正常序列进行比对，寻找到更多的肿瘤相关基因。后来NCI出资成立了一个肿瘤基因组计划项目（The Cancer Genome Atlas, TCGA），该项目的前期投资就高达10亿美元，不过Vogelstein和Kinzler却婉拒了他们的邀请。他们自己在私人基金的支持下对一些乳腺癌组织和结肠癌组织进行了全世界第一次肿瘤基因组测序研究工作，根据他们的理论，这些组织样品足以让他们发现所有最重要的肿瘤相关基因。他们关注的重点是外显子组序列。

在当时还没有出现高通量测序仪的情况下，这项工作可谓是一个非常大胆的尝试。他们以非常原始的方式完成了这项工作，一共搜集了22位癌症患者的组织样品，对其中的1.3万个基因进行了20万次PCR反应，然后将这些PCR产物交给测序公司用传统的Sanger测序法完成了测序。

这场豪赌最终给他们带来了丰厚的回报。Vogelstein的团队于2006年时在《科学》（*Science*）杂志上发表了首篇乳腺癌和结肠癌外显子组粗略序列图谱（详见*Science*, 13 October 2006, p. 268）。他们的测序结果中既包含了已知的癌症相关基因，也有大量他们新发现的、出现频率不等的癌症相关基因。Vogelstein等人将这些出现频率不同的基因分别称作“大山”和“小丘陵”。同时他们还发现了每一种肿瘤特有的突变模式。但是另外一些研究人员却对这个研究成果持不同意见，比如在《科学》杂志上就刊登过一篇技术评论文章，TCGA项目的负责人，同时也是美国马萨诸塞州坎布里奇博大研究所（Broad Institute in Cambridge, Massachusetts）基因组研究员的Eric Lander等人就认为Vogelstein他们采用的统计方法有误，而且样本量太小，所以才会得出这样的结论。

但是Vogelstein和Kinzler并没有就此打住，在2008年他们又开始对成胶质细胞瘤（glioblastoma）的外显子组展开了研究，结果又发现了一个非常重要的基因——*IDH1*基因。这一结果反而让NCI的同行们有点难堪，因为他们也对成胶质细胞瘤进行过研究，但是由于只关注肿瘤组织的样本量，所以检测的基因数量太少，反而漏掉了*IDH1*基因。

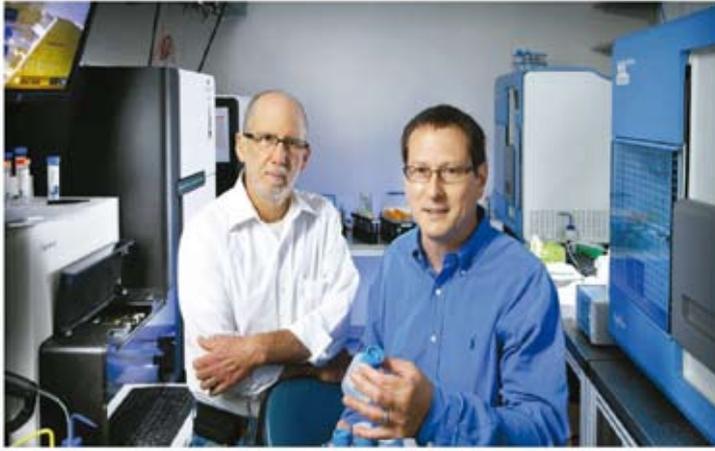
回顾自己以及其他科研人员做过的这些工作，Vogelstein对这种DNA筛查工作的价值感到了一些矛盾。全世界这样的研究工作不下1000个，可是一共也就只找到了80多个肿瘤相关基因。不过其中也包括一些有意思的基因。Vogelstein和Kinzler都认为开展更多的类似TCGA的项目毫无价值，因为这只能发现一些比较少见的突变，最多可以让我们对肿瘤相关信号通路有更完整的了解。所以Vogelstein等人的实验室在对20种肿瘤的外显子组进行完测序研究之后就放弃了这个研究方向。据Kinzler介绍，他们现在关注的是一个全新的领域，他们不会再去发现新的致癌基因，他们要好好利用这些已经被发现的癌症基因。

## 双胞胎和癌症的关系

一直困扰着Vogelstein等人的一个问题是，究竟哪些人可以通过全基因组测序获益呢？Vogelstein等人早在2009年就开始利用外显子组测序技术在同一个家族中寻找与胰腺癌相关的基因，即在同一个家族中对患病成员和未患病成员进行外显子组测序，然后进行结果比对，最后他们发现了*PALB2*基因。这样就可以像对乳腺癌患者进行*BRCA*基因筛查一样筛选出哪些胰腺癌患者属于高危人群。据Vogelstein介绍，他们在完成了这项工作之后就开始思考，如果每个人都拿到了自己的基因组序列，那会给我们带来什么好处呢？除非大部分人都携带了高危基因，否则这种全基因组测序就没有太大的意义。

由于同卵双胞胎的基因组一模一样，所以科学家们不用对他们进行全基因组测序，只需要与健康记录进行比对就可以知道他们患上遗传疾病的风险。Vogelstein等人利用大约5.4万份同卵双胞胎的资料（其中大部分双胞胎都来自欧洲）建立了一个模型，通过这个模型就可以估算出人群中的患病风险。他们发现基因组检测有其潜在的利用价值，如果测试结果为阳性，那就说明总体患病风险约为10%，平均下来每一个人至少在一种疾病上的检测结果会是阳性，比如心脏病或者糖尿病等。但是基因组测序对于常见肿瘤的预测作用却非常有限，他们的这一研究结果发表在了《科学转化医学》（*Science Translational Medicine*）杂志上，同时也在美国癌症研究协会（American Association for Cancer Research, AACR）于今年4月在美国芝加哥召开的大会上做了汇报。对于绝大部分人，这种与DNA相关的风险都非常小，或者根本就不存在，这种风险还没有由随机突变或者抽烟、肥胖等不良生活习惯带来的危害大。

NCI的Chanock认为这些双胞胎的资料里没有太多的癌症资料，所以不能就此下结论。他指出，关于基因组测序的应用价值问题，他目前不会接受Vogelstein等人得出的这个结论。但是对Vogelstein等人的肿瘤外显子组研究同样持批评态度的Lander却认为他们的这个双胞胎研究工作非常有价值，哪怕只是验证了一个我们一直以来都知道的观点，即遗传（基因）并不能决定一切。Lander也表示他自己一直以来的观点同样是遗传风险研究只能够揭示疾病背后的生物学机制，并不能预测每个人的患病风险。



实事求是地面对现实问题。

Vogelstein和Kenneth Kinzler发现有一些计划利用癌症基因组研究进行癌症治疗或者预测患癌风险的研究计划存在一些问题。他们现在正打算开发用于癌症早期诊断的血液检查技术。

## 科技创新

Vogelstein似乎非常喜欢挑别人的毛病。最近他又锁定了一个新目标，那就是欣欣向荣的靶向抗癌药物产业。Vogelstein表示他在去年看过一篇有关黑色素瘤（melanoma）治疗问题的论文之后就开始对这个领域感兴趣了。这篇文章介绍了用一种针对*BRAF*突变基因的靶向抗癌药物对一名黑色素瘤患者进行治疗的情况。在接受治疗之前，这名患者的皮肤上长满了转移瘤，可是接受治疗之后不久，这些转移瘤就全都消失了，最后这名患者看起来和正常人没有两样。可是5个月之后，肿瘤又在最初的位置重新冒了出来。所以Vogelstein指出，这篇文章让我感到了困惑。为什么这些肿瘤几乎都在同一时刻、在同一地点又全都回来了呢？这就和当初它们全都同时消失一样神奇。

针对其它肿瘤的靶向抗癌药物也经常会在用药5个月左右突然失效，这可能是由于耐药细胞被筛选出来，成为患者体内的主要肿瘤细胞而导致的。为了彻底弄清楚这个问题，Vogelstein-Kinzler实验室的Luis Diaz等人利用他们自己开发的一种非常敏感的突变侦测技术进行了研究，这种技术可以对患者血液中含量非常低的肿瘤DNA进行检测，从而发现其中的突变，所以他们将这种技术称作“液体活检技术（liquid biopsy）”。他们为一些已经对靶向抗癌药物耐药的晚期结肠癌患者进行了液体活检，然后在哈佛大学计算生物学家Martin Nowak的帮助下建立了一个计算机模型，结果发现这些患者在接受靶向药物治疗以前，体内的某些肿瘤细胞就已经发生了自发突变，而这种自发突变的结果就是让它们对这种靶向抗癌药物产生耐药性。他们的这一研究成果已经写成了论文并投给了《自然》（*Nature*）杂志，他们在文章中将这种提前出现的耐药现象称作“早熟耐药现象”。

但是根据这一模型还发现，将针对两条不同信号通路的靶向药物联用就可以推迟这种耐药现象的出现。事实上，Vogelstein等人也认为我们都知道单独使用一种药物最终肯定会失败，所以在某种靶向药物通过了毒性试验之后就立即、并且只给病人使用这一种靶向药物可以说是一种非常不道德的行为。Vogelstein指出，虽然这样做的成本很高，可为什么制药公司就不能设计一个大型的临床试验，对多种针对不同信号通路的靶向药物联用的效果进行测试呢？

斯隆-凯特林纪念癌症中心（Memorial Sloan-Kettering Cancer Center）的肿瘤研究专家 Charles Sawyers 曾经参与过抗癌药物 Gleevec（该药物主要用于治疗白血病，它的问世也为其它抗癌靶向药物铺平了道路）的研发工作，他也同意 Vogelstein 的观点，并指出，我们必须尽快开展抗癌联合用药的相关工作。

Vogelstein-Kinzler 实验室决定从几个新的角度对肿瘤发起攻击，其中就包括开展细菌抗癌疗法临床试验。不过 Vogelstein-Kinzler 最想做的还是将他们的液体活检技术尽快推广开来，使其能够应用于多种常见肿瘤的早期诊断。这种技术的原理其实非常简单，就是在患者血液中寻找肿瘤基因组中常见的突变。

Vogelstein 和 Kinzler 认为，检测 DNA 突变要比检测其它蛋白类的肿瘤标志物更加能够说明问题。在这次的 AACR 大会上，Vogelstein 介绍了他们课题组最近对 304 位身患各种癌症的患者做的血液检测结果。几乎所有的转移癌患者的血液中都能够检出突变，超过 50% 的未转移患者血液检测结果同样为阳性，可是在 82 名对照组中没有检出一例阳性。现在德国的 Inostics 公司正在从事将这项技术商品化的工作，Vogelstein 也拥有这家公司的股份，他认为这项技术离市场应用已经不远了。

虽然 Vogelstein 的科研热情还和以前一样强烈，但是据知情人介绍，他最近这几年已经开始逐渐退居二线了。他现在就正在度假。最近他每个星期都会用两个下午陪孙子。这两个孩子的叔叔，约翰霍普金斯大学的神经学家 Joshua Vogelstein 认为这两个下午是 Vogelstein 一周中最快乐的时光。据 Kinzler 介绍，他们的实验室现在正变得越来越“苗条”，他们实验室最顶峰的时候大约有 40 名工作人员，其中包括 6 名职员，可现在只有大约 30 人了，原因之一就是他们现在已经没有太多的测序工作了。自从 Kinzler 的妻子在十年前患上了白血病，并且在患病半年就去世了之后，Wild Type 乐队也已经很久没有演出了。Vogelstein 指出，他们已经停下来了，并且再也没有重新开始。

Vogelstein 现在还没有退休计划。不过在他死之前他还有一个目标想要实现，那就是希望他们的血液肿瘤突变筛查项目可以成为每一个人每年体检中的常规检测项目。他强调，他只想看到这一幕成为现实，仅此一件事而已。

#### 原文检索：

JOCELYN KAISER. (2012) Cancer Genetics With an Edge. *Science*, 337:282-284.

# miRNA / 基因筛查阵列 及定制服务



## 帮您找准靶点， 正中红心

阵列采用基于SYBR Green的qPCR检测方法，与杂交探针阵列相比，具有假阳性低、灵敏度高、操作简便等特点。主要应用于基因表达量差异筛查、miRNA筛查及iPS、癌症和信号通路等中的相关生物靶点的筛查和研究。

名称	描述
人源全基因组 miRNA筛查阵列	将已验证的1126条特异引物固定在96孔反应板上制备的特异表达量miRNA筛查阵列
基因筛查阵列	采用qPCR检测方法，避免假阳性 覆盖多种癌症、信号通路等生物功能研究领域
miRNA筛查阵列	采用qPCR检测方法，避免假阳性 覆盖多种癌症、信号通路等生物功能研究领域
iPS筛查阵列	包含有保守区域DLK1-Dio3内65个iPS相关miRNA，可用于检测干细胞的分化程度或诱导性iPS细胞的全能性水平，同时也可筛选特异miRNA用于细胞多能性功能研究。
阵列定制服务	可根据客户需要定制个性化的筛查阵列。

### 国际贸易间接影响生物多样性

据一项关于全球供应链及消费方式影响生物多样性的模拟分析表明，国际贸易在动物物种灭绝的威胁因素中，以30%的比例高居首位。

目前，生物多样性的缺失正逐渐变得更为私人化。如果你对此不甚理解，那么不妨看看由Lenzen等人撰写并发表于这期杂志（*Nature* Vol.486,Jun 2012）第109页的一项研究。这项研究表明，刚调好的一杯新鲜热辣的咖啡很可能明显导致引起动物灭绝的多种威胁产生。为了证实此言论不是危言耸听，作者向我们呈现了一套与国际商贸相关的物种威胁分析，这套分析基于一个将终端消费与经济活动相连接的全球供应链的复杂模型，并由此来阐述问题。于是，就有了我们上面所提到的例子——喝咖啡与物种的易损相关。

让我们说得更为通俗一些。假如你买了一副象牙制的国际象棋，那么应该可以想到自己促成了一头大象的谋杀。但若你买的是一根香肠，那么恐怕不会想到，为香肠贡献填料的猪所食用的大豆饲料是否来源于因扩建而侵占大象居住地形成的农场。或许你会觉得，后者的关系链太长了，就算有影响也没什么关系。然而，上述两种情况导致的物种多样性效应其实差不多。所以，弄清导致动物物种灭绝的整个因果链关系就能探明一个疑难问题。

目前，当某些物种被列入易受减损、濒临灭绝或者已经灭绝的“红色名录”（Red List）之中时，尽管人们能够常规性地识别出针对这些物种的单个威胁因素，但迄今为止，那些隐藏在直接因素背后的驱动力仍然无法量化。这种不完全的认知妨碍了我们发现重要的情况，也妨碍我们正确识别不同驱动力的重要性。

将某种直接原因（比如可识别人群产生的特定商品消费）和威胁生物多样性的直接原因（比如栖居地改变）联系起来的困难在于穿插于彼此相互联系的环境系统和人类系统之间的因果关系的完全复杂性，而且缺乏足够的指数。而Lenzen等人在建立这种关系连接时，提出了两个重大进展：第一是他们的模型，这是迄今为止描述产品和消费之间的经济关系最为细致的模型；第二就是他们利用世界自然保护联盟红色名录（Union for Conservation of Nature's Red Lists）所提供的威胁因素记录，用以识别濒危物种与经济生产活动之间的直接联系。

这套多领域投入-产出模型对制造工业及其它生产部门所需要的多种投入进行追踪，甚至还跨越了国界，因此已经成为分析消费活动带来的环境压力的一种备选工具。例如，这套模型能将新兴经济的生产活动带来的温室-气体排放与发达国家的消费联系起来，从而表明，对于发达国家来说，因进口商品而导致的气体排放增长率会比因出口商品而导致的增长率攀升快。同时，Lenzen等人还展示了一套新的多领域投入-产出模型。在这套模型中，他们利用广泛的数据源——主要是国家投入-产出表以及贸易数据——来进行“从头开始”的构建，并将强大的计算操作和先进的方法（用于协调相互冲突的数据以及在无主要数据出现的情况下估计数据点）组合起来。这样，宏大的分析框架也就逐渐展现在我们面前了。

接着，作者利用他们构建的模型将经济活动与生物多样性联系起来（图1）。通常来说，这类将经济活动与单个环境压力联系起来的评估一直被视为生物多样性的威胁因素，比如土地利用、水资源利用或者土地和水的过度承载。这种方法使得消费活动造成的各种不同程度的环境压力得到了量化。接着，他们利用机理模型来评估其中的影响情况，此模型能将环境压力与显示生态系统所受影响的中间指数或者最终指数联系起来（比如物种威胁）。但是，目前有许多这样的影响机制，其中一些还高度依赖于地域，因此这种评估方法无法提供一个令人满意的全球生物多样性影响图。但其实仍有一种替代方法能将生物多样性模型与环境压力联系起来，只是据本文作者所知，这种分析方法目前还未能与全球供应链模型相联系。

遗憾的是，Lenzen等人固执地回避任何尝试去模拟环境压力及其对生态系统影响之间的因果关系，而只是依靠红色名录所提供的威胁因素（比如‘小佃农的耕种’以及‘采伐林木’）来进行分析。因此，他们所分析的因素也就只与某些特定工业（比如农业及林业）的投入-产出表相关联。而当一种以上的工业能与某个因素联系起来的时候，产生的相应责任也就按照工业的经济重要性比例进行分配。所以，在作者构建的系统之中，测量的基本单位就是本国独有的濒危物种记录。换言之，就是分析给定的国家中已被列入红色名录的物种案例。在他们的模型中，由于利用投入-产出算法，部分责任也被重新分配到世界各地的终端消费者头上。其中一个例子就是美洲中部的蜘蛛猴（Spider monkey, *Ateles geoffroyi*），该类动物因咖啡豆和可可树的种植而失去栖居地，从而被列入红色名录（图1）。



图1 出口导致的物种威胁。咖啡豆的出口贸易是为了制作供人们消费的咖啡，而它的生产导致的工业压力会对环境造成影响，从而促使蜘蛛猴因失去栖居地而受到物种威胁。这说明消费和生物多样性缺失的因果关系包括经济活动的驱动力（生产、贸易和消费）；上述活动产生的压力（比如资源攫取、污染和土地利用）；以及产生的环境进程（比如物种栖居地变化就与上述压力产生的影响相关，其中包括物种威胁）。影响-评估方法的特点是追踪由压力而产生的影响的整个因果关系，但Lenzen等人则一直在利用已观察到的濒危物种的确定因素，将生物多样性缺失和经济活动直接联系起来。

Lenzen等人的研究结果表明，世界上被列入红色名录的物种中，30%都是由国际商贸导致的。其中美国、日本及欧洲国家均为主要的濒危物种净“进口”国，而东南亚国家则是主要的净“出口”国——在这些地区，大多数物种威胁都源于贸易的发生。作者还表明，贸易给生物多样性带来的威胁与其为全球带来的二氧化碳排放相似，只不过目前最大的二氧化碳排放出口国是中国、俄罗斯和南非。

不过，这项研究过于强调国际贸易所产生的效应，这是有一定风险的。因为在发展中国家，出口粮食产生的现金收入所获取的增值比为生存而发展的农业获取的增值要高，因此物种威胁可能会不均衡地分配到出口粮食方面。当然，正如Lenzen等人所做的那样，从效应方面开始进行原因-效应分析是一条新颖而有意思的途径。但是，他们的结果应该通过进一步地研究来进行确认，这些研究需要探讨全球贸易对生物多样性产生的压力与消费之间的联系。

尽管如此，这项研究为我们提供了一个信号，即人们需要将消费领域作为一项指标来减轻生物多样性受到的各种威胁，这一点是很有价值的。而仍为我们留下的关键问题是，当前（正在增长）的消费领域是否将不可避免地导致这些威胁出现？或者说，我们能否寻求一些方法，在满足这种消费需求的同时，也能使富裕的消费者减少其产生的不良影响？比如说，改善标志制度，或者使用一些影响度较低的生产方法。这或许也是研究者们所期待的方向。

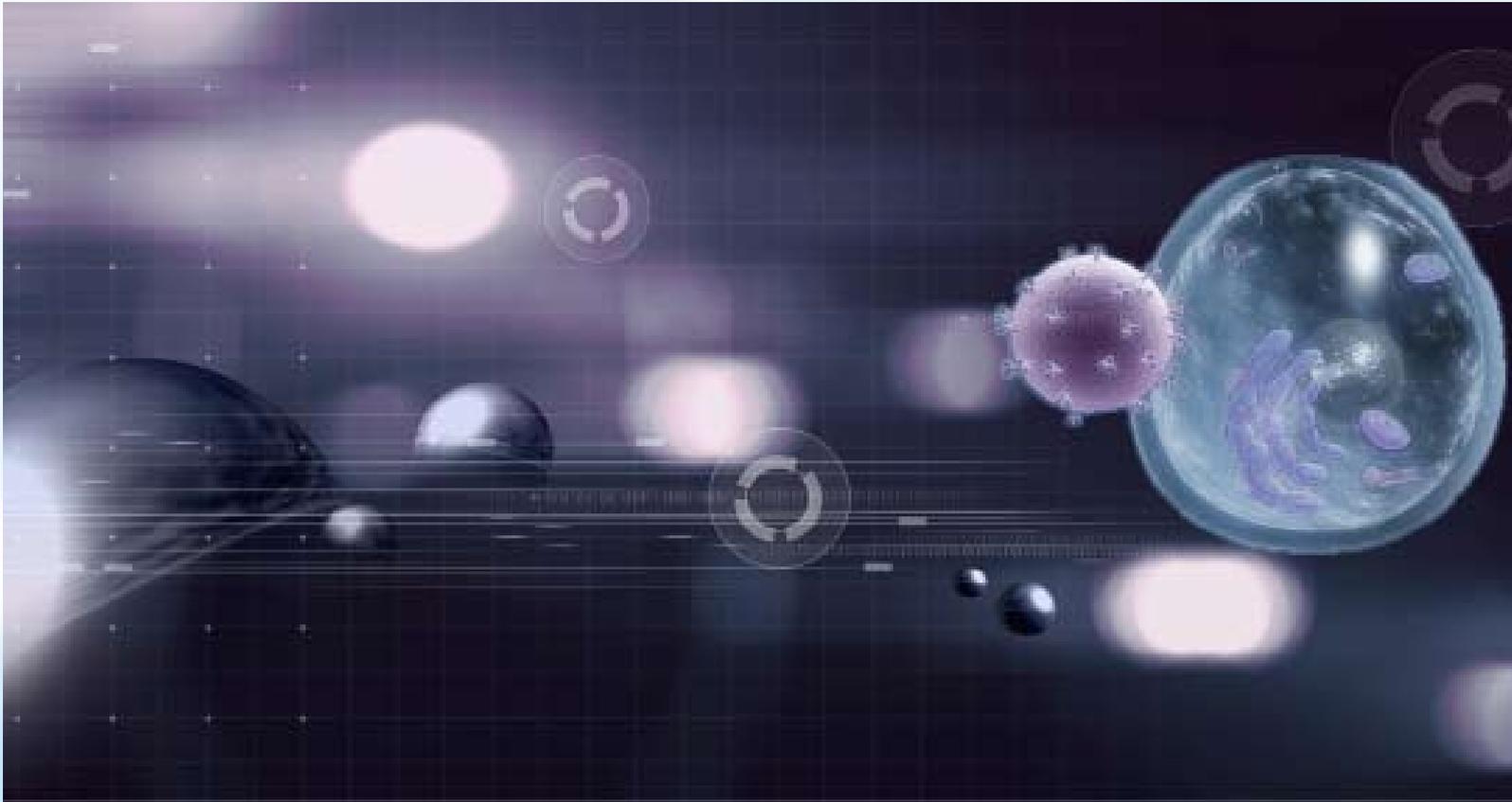
原文检索：

EDGAR HERTWICH. (2012) Remote responsibility. *Nature*, 486, 36-37.

文佳/编译

# 慢病毒颗粒包装服务

慢病毒质粒构建 + 病毒包装 + 质检 = **最快20个工作日**

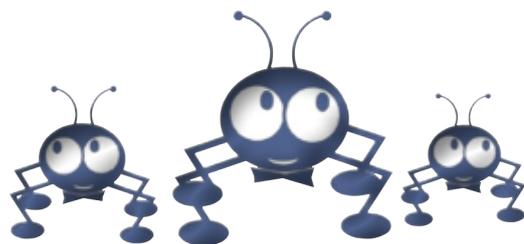


## 产品优势

- ◆ 25000个人源/15000个小鼠基因，1126个人源/672个小鼠/408个大鼠miRNA，多种载体和标签可供选择
- ◆ 15000个已构建慢病毒载体人源基因表达克隆、1200个慢病毒载体miRNA前体表达克隆、1200个慢病毒载体miRNA inhibitor表达克隆
- ◆ 选择已构建好的表达克隆包装病毒，最快20个工作日即可提供病毒颗粒，病毒滴度  $>10^7$  copies/ml

## 应用范围

- ◆ 目的基因、miRNA的过表达与抑制表达
- ◆ 可转导大部分细胞，包括原代细胞、干细胞等难转染细胞
- ◆ 稳定细胞株筛选
- ◆ 癌症、基因组疾病等的基因治疗

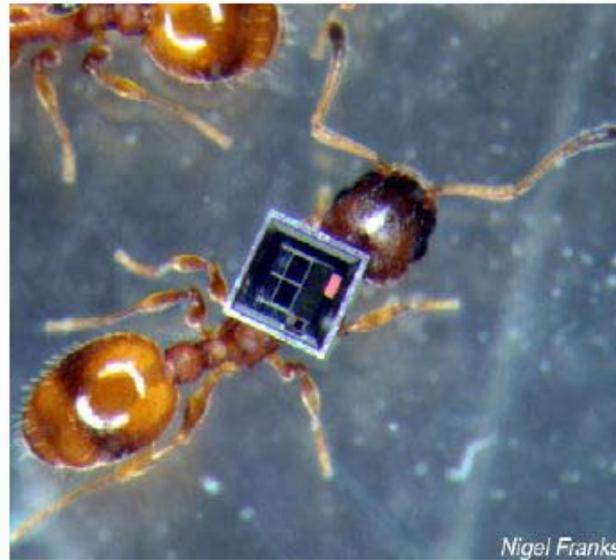


## 为何纤瘦的蚂蚁听命于集体的食欲

饥肠辘辘往往是告诉你需要进食的良性信号，但若你是为了满足集体的食欲去觅食，伟大倒是伟大了，却怎么知道自己饿不饿呢？这正是社会性昆虫要面临的一个问题。据英国约克大学（University of York）的Elva Robinson称，切胸蚁属的一种蚂蚁（*Temnothorax albipennis*）中的觅食者通常是蚁巢中最瘦弱的成员。然而，当Robinson忆及这些柔弱的觅食者放弃享用它们开发的树蜜之路，而无私地选择养肥蚁巢里的同伴时，她认为再没有谁比这些纤瘦的蚂蚁更容易知道自己什么时候饥饿了，这恐怕就是激发它们去觅食的原因。尽管如此，Robinson与其同事Ofer Feinerman和Nigel Franks仍希望弄清这些骨瘦如柴的蚂蚁去觅食的真正原因：是因为它们的体重已经降至某个关键的临界值之下呢，还是它们受到此前觅食经历的影响，结果其纤弱只不过是那种疯狂的生活方式导致的一种副作用罢了。

Robinson表示，这个问题说起来容易，但解决起来却几乎是不可能的。不过事情还是出现了转机，因为正好出现了解决瓶颈的技术。此时，研究小组意识到他们可以利用微射频（minute radio frequency）身份标志标签（ID tag）来选择性地开启蚁巢的出口，于是设计了一个试验。在试验中，他们分别展示了丰满的和纤瘦的蚂蚁觅食的活动，以期发现驱使它们寻找食物的原因——是瘦弱的身体需要还是觅食经验使然。

首先，Robinson与Feinerman合作，构建了一扇电脑控制门，这扇门能被蚂蚁的身份标志激活，在试验中起着关键的作用。起初，Robinson允许蚁巢中所有的成员在实验区域内自由漫步，并由她在此区域内装配了储备丰富的供料器，每天供食1小时。这对蚁巢而言不啻是一大喜事。不过，当第一批成功找到食物的蚂蚁返巢时，Robinson用一台标记读出器扫描了它们身上的身份标志，然后把它们登记到禁止再次外出的黑名单中。于是，在失去食物供应的情况下，蚁巢派出另一批觅食蚂蚁离巢外出，但随着它们的返回，这批蚂蚁也被列入了黑名单。



一周之后，Robinson拍摄下这些觅食的蚂蚁，以检测它们的脂肪水平，同时逐渐完善那份黑名单。结果显示，在试验末期外出活动的觅食蚂蚁比首日出发的觅食蚂蚁丰腴。接着，她清除掉整份黑名单，观察哪些蚂蚁会首先离巢：是已遭受一周禁闭、经验过时的最纤瘦的觅食蚂蚁呢，还是拥有最新经历的丰满蚂蚁？

结果十分清晰。据Robinson回忆，一旦这些蚂蚁能够再次出门，最纤瘦的蚂蚁就马上外出觅食。然后，她在试验第二周时再次建立了黑名单，当最纤瘦的觅食蚂蚁再次被有计划地禁止离巢时，觅食蚂蚁的腰围均有所增加。

因此，一只蚂蚁的瘦弱程度是决定其是否外出觅食的最重要因素。但是，当Robinson进一步观察蚂蚁的活动方式时，她意识到它们的经验也有助于缩小决定的范围。对此，她回忆说，对任何一只达到一定纤瘦程度的蚂蚁而言，如果它在上一周已经获得了哪怕是一点点的觅食经验，那么比起完全没有任何经验的蚂蚁来说，它都更有可能再次外出。

考虑到蚂蚁策略的基本原理，Robinson表示，有一些很好的理由可以说明为何他们会期待这个因素对纤瘦的蚂蚁觅食起重要作用。

Robinson解释说，纤瘦的蚂蚁比其丰满的蚁巢伙伴更灵巧，同时也更缺乏价值。此外，她还补充说，蚂蚁的这种机制是能够自我调控的。当蚁巢中的蚂蚁处于饿死的边缘时，会派遣许多觅食蚂蚁外出，以满足它们的饥渴；而当觅食蚂蚁窝在供应丰富的蚁巢中时，由于它们获得了较多的食物，还不得不消化自己所承担的、注定要将树蜜供给已经喂饱了的集体之胃时，它们就会对觅食失去兴趣。

#### 原文检索：

Robinson, E. J. H., Feinerman, O. and Franks, N. R. (2012). Experience, corpulence and decision making in ant foraging. *J. Exp. Biol.* 215, 2653-2659.

 文佳/编译

A group of people are performing a human pyramid against a cloudy sky with a bright sun. The pyramid consists of four people standing on the ground, three people standing on their shoulders, and one person standing on the shoulders of the three people in the middle. The text is overlaid on the image in a bold, red font with a white outline.

**合办专题专刊**  
**网站广告合作**  
**邮件群发推广**

请致电 (020) 32051255