

肝癌干细胞的研究进展

宋凯, 杨硕菲, 吴俊华, 江春平

■背景资料

肝癌是常见的恶性肿瘤之一, 我国肝癌死亡的人数占世界肝癌死亡人数的45%。目前, 关于肝癌的发病机制并不十分清楚, 但肿瘤干细胞学说的提出和发展, 提示了肝癌干细胞存在的可能性。据此, 研究人员对其表面标志物、信号通路等进行了大量的研究, 希望可以证实肝癌干细胞的存在, 并进一步将其分离培养, 从而为肝癌的预防和治疗开辟新的途径。

宋凯, 杨硕菲, 吴俊华, 南京大学医学院 江苏省南京市 210046

宋凯, 杨硕菲, 江春平, 南京大学肝胆研究所 江苏省南京市 210008

江春平, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科 江苏省南京市 210008

南京市卫生局重点基金资助项目, No. ZKX08025

作者贡献分布: 本文由宋凯与杨硕菲综述完成; 吴俊华与江春平审校。

通讯作者: 江春平, 教授, 210008, 江苏省南京市, 南京大学肝胆研究所, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科。

chunpingjiang@yahoo.com.cn

电话: 025-83304616-11902

收稿日期: 2009-11-13 修回日期: 2009-11-23

接受日期: 2009-11-30 在线出版日期: 2009-12-28

Advances in research on liver cancer stem cells

Kai Song, Shuo-Fei Yang, Jun-Hua Wu, Chun-Ping Jiang

Kai Song, Shuo-Fei Yang, Jun-Hua Wu, School of Medicine, Nanjing University, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Kai Song, Shuo-Fei Yang, Chun-Ping Jiang, Institute of Hepatobiliary Surgery, Nanjing University, Nanjing 210018, Jiangsu Province, China

Chun-Ping Jiang, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated DrumTower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210018, Jiangsu Province, China
Supported by: the Major Program from Health Bureau of Nanjing City, No. ZKX08025

Correspondence to: Professor Chun-Ping Jiang, Institute of Hepatobiliary Surgery, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated DrumTower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210018, Jiangsu Province, China. chunpingjiang@yahoo.com.cn

Received: 2009-11-13 Revised: 2009-11-23

Accepted: 2009-11-30 Published online: 2009-12-28

Abstract

Cancer stem cells have been identified in various human tumors. However, it remains controversial as to whether or not liver cancer stem cells (LCSCs) exist until now. There are two hypotheses to explain the origin of liver cancer stem cells: the dedifferentiation of mature hepatocytes and the maturation arrest of liver stem cells. Now, the latter is generally acknowledged to be the better one. To obtain direct evidence for the existence of LCSCs, many researchers focus their studies on the surface markers on LCSCs to identify ideal markers for

isolation of LCSCs. Besides, the relationship between side population (SP) cells and LCSCs also attracts much attention. Therefore, the study of LCSCs is probably of great significance for the diagnosis and treatment of liver cancer.

Key Words: Liver cancer stem cells; Surface marker; Side population cells; Targeted therapy

Song K, Yang SF, Wu JH, Jiang CP. Advances in research on liver cancer stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(36): 3704-3710

摘要

肿瘤干细胞已经被证实存在于一些肿瘤组织中, 而肝癌干细胞是否存在仍未得到确切的结果。通过实验, 研究人员对于肝癌干细胞的来源提出了两个假说: 成熟肝细胞的去分化与肝干细胞的“成熟受阻”。目前后者是较为公认的肝癌形成途径。同时, 为了得到肝癌干细胞存在的直接证据, 研究人员一直致力于其表面标志物的研究, 希望通过得到理想的标志物来鉴定分选出肝癌干细胞。SP细胞与肝癌干细胞的研究也是目前研究的热点。因此, 肝癌干细胞的研究将会对肝癌的诊断和治疗产生重大的意义。

关键词: 肝癌干细胞; 表面标志物; 侧群细胞; 靶向治疗

宋凯, 杨硕菲, 吴俊华, 江春平. 肝癌干细胞的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17(36): 3704-3710

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/3704.asp>

0 引言

肝癌是常见恶性肿瘤之一, 死亡率高, 仅次于胃癌、食管癌而居第3位。我国每年死于肝癌约11万人, 占全世界肝癌死亡人数的45%。目前, 关于肝癌发生的机制仍不清楚。随着越来越多的肿瘤中发现肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)的存在, 有理由认为肝癌中也可能存在肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)。若这一推测得到证实, 不仅可以早期诊断出肝癌, 而且还能控

■同行评议者

徐泱, 副教授, 上海复旦大学附属中山医院肝肿瘤外科

制其生长、转移和复发, 从而为肝癌的治疗开辟了新的途径。

1 CSCs与肝癌

传统理论认为肿瘤是由于人体内某一部分细胞在多种因素影响下基因发生变异, 形成不受机体控制、无限增殖的肿瘤细胞, 其中具有转移能力的肿瘤称为恶性肿瘤。过去, 人们一直认为, 肿瘤的生长是所有肿瘤细胞共同作用的结果。现今发现, 肿瘤的生长和转移是由于其内部一部分具有干细胞特征的肿瘤细胞增殖和迁移所造成的结果。据此, *Reya et al*^[1]提出“肿瘤干细胞学说”, 即在肿瘤组织中存在一种数量较少的干细胞样癌细胞亚群, 其同时具有癌细胞和干细胞的特征, 是肿瘤形成的起始细胞, 在肿瘤形成、生长和转移中起决定性作用, 这种细胞称为CSCs。

虽然肿瘤干细胞学说很早就被提出, 但直到近些年才被人接受。*Bonnet et al*^[2]在急性粒细胞白血病首次找到CSCs。在其他实体瘤中也被证实存在CSCs。*Al Hajj et al*^[3]在乳腺癌组织中成功分离出干细胞样肿瘤细胞, 证实在乳腺癌中存在CSCs。大量的实验还证实了前列腺癌、肺癌、脑肿瘤和胰腺癌中存在CSCs^[4-7]。

肿瘤干细胞学说提示了LCSCs存在的可能性。*Robrechts et al*^[8]在入院9 d后即死于肝癌的患者肝脏肿瘤中发现了体积相对较小、同时具有肝细胞和胆管细胞双重特点的细胞, 推测这些细胞可能是未成熟的肝祖细胞且在生长过程中未发生分化, 这可能是该患者病情迅速发展的原因。*Parent et al*^[9]从肝细胞癌的肝脏中分离出具有分化潜能的肝干细胞系, 免疫组织化学结果显示这些祖细胞的数量在病变的肝脏中要比正常肝脏多50%, 这很可能是由于在病变的过程中祖细胞的增殖被激活所造成的。*Song et al*^[10]分析了63例肝癌组织切片, 发现在肝癌组织中频繁出现CD133阳性细胞, 并且随着病情不断加重, CD133的表达也随之加强, 从而提示了CD133阳性细胞可能是LCSCs的可能性。

2 LCSCs

“肿瘤干细胞学说”为肝癌的研究提供了崭新的思路, 目前, 关于LCSCs的来源有两种观点: 一是认为LCSCs起源于成熟肝细胞的去分化; 另一种认为其起源于肝干细胞的“成熟受阻”。

2.1 成熟肝细胞去分化来源 有作者通过多年的

化学致癌剂诱导癌变的实验, 研究癌变前位点, 提出LCSCs起源于成熟肝细胞的去分化的推测。*Gournay et al*^[11]使用逆转录病毒作为载体介导 β -半乳糖苷酶基因在2-AAF诱导小鼠癌变模型中进行标记, 得出结论: 癌前位变点起源于成熟肝细胞。*Bralet et al*^[12]在肝切除术1 d后, 向小鼠体内注射含有nls-LacZ基因的逆转录病毒载体。待肝再生完全后, 肝组织活检显示18.3%的肝细胞表达nls-LacZ基因。随后给小鼠喂养二乙基亚硝胺(DEN), 检查发现约有17.7%的癌细胞表达nls-LacZ基因, 这一数字与投药前所标记的干细胞比例(18.3%)几乎一致, 说明肝癌起源于成熟肝细胞的去分化。

2.2 肝干细胞“成熟受阻”来源

2.2.1 肝干细胞及其来源: 在人体肝组织中存在两类肝干细胞, 即小肝细胞和卵圆细胞。小肝细胞位于胆管上皮, 体积较小, 有高密度的核, 形态与正常肝细胞相似, 具有强大的增殖能力。而卵圆细胞是公认的肝干细胞的代表, 位于胆小管和Hering管部, 细胞体积较小, 呈圆形或椭圆形, 细胞质少, 核质比例大, 胞核呈卵圆形, 故其被称为卵圆细胞。

肝干细胞的来源有两种可能。一是肝内来源即在肝脏发育成熟后, 组织内仍保留少量处于休眠状态的干细胞。当这些干细胞受到某些因素的作用时, 可以被激活成为肝干细胞并继续分化成为肝细胞或胆管细胞。二是肝外来源即肝干细胞来源于其他组织, 例如骨髓等。*Petersen et al*^[13]将雄鼠的骨髓移植到雌鼠体内, 以Y染色体作为标记, 在雌鼠体内观察到来源于雄鼠骨髓的卵圆细胞, 并且进一步分化成为肝细胞。首次提出了肝干细胞可以来源于骨髓。*Theise et al*^[14]研究异性间的肝移植和骨髓移植, 也证实了上述结论。骨髓干细胞与肝干细胞的关系同样令人关注。*Bae et al*^[15]研究发现Thy1阳性的骨髓干细胞在体外培养中表达肝特异性基因, 并可在人体内形成肝细胞。施晓雷 *et al*^[16]采用均匀设计法筛选最佳诱导培养体系, 可以有效地促进骨髓基质干细胞体外定向转化为有功能的肝细胞。最近有研究提示S1P介导的骨髓间充质细胞归巢行为与肝脏纤维化有密切关系^[17]。

2.2.2 肝干细胞与肝癌: 近些年来, 随着对于肝干细胞在肝癌形成过程中重要性深入认识, 越来越多的实验证明LCSCs起源于肝干细胞的“成熟受阻”。*Dumble et al*^[18]诱导小鼠产生卵圆细胞, 并将卵圆细胞分离后移植到没有胸腺的小

■研究前沿

虽然越来越多的研究证实了肝癌干细胞的存在, 但至今仍未从肝癌组织中直接分离得到肝癌干细胞。因此, 研究人员将研究重点放在了其表面标志物上。目前已有相当数量的文献报道了多种表面标志物可以用来识别肝癌干细胞, 但至今未达成一致。而且, 对于肝癌干细胞的培养技术目前还存在一些缺陷。总而言之, 分离培养肝癌干细胞仍是亟待解决的问题。

■相关报道

Jabari *et al*研究在体内外不同肝癌细胞系表达不同的标志物组合,并据此将肝癌细胞分为4类:(1)Huh-7、Huh-7 p c D N A 3.1、Hep3B细胞系表达CK7/19、 β -catenin和CD34;(2)Huh-7、5-15细胞系表达CK19、波形蛋白和Ki-67;(3)在基质胶中培养的Hep3B表达CK19、 β -catenin和PTC;(4)HepG2表达CK18/19和 β -catenin.这表明还有很多分子可能成为LCSCs的表面标志物,目前发现的还是很少一部分.

鼠体内,能够产生与肝癌相似的肿瘤,说明卵圆细胞可能参与肝癌的形成. Grozdanov *et al*^[19]报道癌胚蛋白Gpc3可以作为肝祖细胞的标志物,并通过建立Solt-Farber肝脏致癌模型研究证实肝祖细胞/卵圆细胞与肝癌的发生有密切的关系. Polycomb组蛋白Bmi1和Wnt/ β -catenin与多种干细胞的自我更新能力有关, Chiba *et al*^[20]对其进行功能性研究发现表达Bmi1和Wnt/ β -catenin的突变体其自我更新能力得到提高,将其移植到免疫缺陷的小鼠体内即产生肝癌,提示肝干细胞自我更新的失控是肝癌变的起始事件. 最近研究在肝癌组织中的具有干细胞特征的EpCAM(+)细胞引导了肝癌细胞的生长和转移,进一步提示肝干细胞与肝癌的发生有着密切的联系^[21].

3 LCSCs的表面标志物

随着肿瘤干细胞学说的不断发展,对白血病,乳腺癌和人类中枢系统肿瘤等癌组织和癌旁组织中CSCs的表面标志物的明确和分离成功,直接针对CSCs的研究已经成为将来通过CSCs为靶点去攻克癌症的基础研究热点. CSCs与肿瘤细胞和干细胞具有双重相似性,利用某些肿瘤细胞特征与干细胞特征相结合的方法,是目前从癌组织中分离筛选CSCs的主要理论依据. 国内外专家学者对LCSCs表面标志物不断进行着探究,目前用来分选LCSCs的方法是荧光活化细胞分选法(FACS)和磁性激活细胞分选法(MACS),这两种方法都需要有明确LCSCs表面标志物.

3.1 类肝癌细胞特异性标志物

3.1.1 甲胎蛋白: 甲胎蛋白(AFP)是公认的检测肝癌的肿瘤标志. 在研究LCSCs的表面标志物时,研究人员常将AFP与其他标志物结合来鉴定LCSCs. Yamashita *et al*^[22]在提出EpCAM可作为肝癌前期生物标志后,又利用不同的EpCAM(+)细胞表达AFP的程度不同,将其进一步分成4个亚群,且每一个亚群特异的基因表达与肝癌发展的阶段有关,这对诊断肝癌和追溯其来源有重要意义. 但Ishikawa *et al*^[23]通过临床试验发现肿瘤形成细胞对AFP抗体反应剧烈,但同时也对CK7, CK14和CD133有阳性反应. 由于AFP特异性和敏感度并不理想,因此现在认为不能单独使用AFP作为LCSCs的表面标记物,而经典肿瘤理论认为AFP的高表达与肿瘤组织中细胞的去分化有关,也许在明确了其与LCSCs有怎样的联系之后,经典的肿瘤理论与肿瘤干细胞理论在

肝癌上会得到一定的统一,为我们更快攻克肝癌提供更多的思路.

3.2 类干细胞特异性标志物及相关基因 在通过类干细胞表面标志物寻求LCSCs表面标志物的过程中,有下面几个方向值得关注,这也是目前探索的热点.

3.2.1 表面抗原分化簇(cluster of differentiation CD): 用以单克隆抗体鉴定为主的方法,将来自不同实验室的单克隆抗体所识别的统一分化抗原,称之为CD. 有研究表明CD蛋白可作为LCSCs表面标志物. Yamashita *et al*^[22]通过对肝肿瘤标本分析,发现EpCAM(即CD326)(+)AFP(+)细胞亚群具有肝干细胞特征,通过FACS分离出的EpCAM(+)细胞不仅具有肝干细胞的自我更新和分化的特征,而且能够启动肝肿瘤细胞高度的攻击性. Yang *et al*^[24]通过观察不同组织来源的CSCs,发现肝癌组织中CD90(+)的细胞具有形成肿瘤的能力,而CD90(-)的细胞不具有这种能力. Ma *et al*^[25]观察分离CD133(+)的肝干细胞,具有自我更新和增殖分化的能力,并能在体内形成肿瘤. 但是最近有作者研究指出^[26]CD133(+)和CD133(-)均具有更新、增殖、分化和侵入的能力,因此CD133不能单独成为鉴定LCSCs的标志物. 因此,有关CD系蛋白是否可以成为LCSCs标志物仍存在较多争论,目前还只能等待更具说服力的实验出现才能最终下结论,但把CD视作一种可以缩小我们分离细胞范围的指向性蛋白已经完全可以.

3.2.2 角质蛋白: 又称细胞角质素(cytokeratin CK),有研究比较各个表面标志物阳性与阴性肿瘤细胞亚群移植裸鼠后成瘤能力的差异,发现Thy-1阳性细胞、CK7阴性细胞与AFP阳性细胞成瘤能力明显大于对应细胞亚群,具备初步的LCSCs特征. Zhang *et al*^[27]发现,肝癌可能来源于肝祖细胞,而这些祖细胞中CK7、CK19、c-kit、OV-6的表达较高. 但随着研究的深入,大多数学者认为CK19是胆管细胞而非肝祖细胞的特异性标识. 颜政 *et al*^[28]在分离、培养肝癌细胞时,按照卵圆细胞表面标记分选肿瘤细胞并分别异体移植裸鼠,检测体内成瘤能力差异,结果表明人肝细胞癌的肿瘤细胞中存在成瘤能力差异巨大的肿瘤细胞亚群,而这很可能就是LCSCs的群落. 最近王阁 *et al*^[29]报道发现:原发性肝癌不同病理组织类型均可表达CK7、CK19、AFP、c-kit和Thy-1多种肝干细胞标志,这可能与肝干细胞的多源性和分化程度有关. Durnez

et al^[30]通过对109例肝癌标本进行分析发现CK7或CK19阳性的细胞可能是LCSCs, 且存在CK19阳性肝癌的患者肝移植后复发率高, 预后较差的特点. CK系蛋白可以作为肝干细胞(卵圆细胞)的重要表面标记物, 肝干细胞(卵圆细胞)又很可能是LCSCs的来源, 所以CK系蛋白必定会备受关注.

3.3 自身特异性标志物 Jabari *et al*^[31]研究在体内体外不同肝癌细胞系表达不同的标志物组合, 并据此将肝癌细胞分为4类: (1)Huh-7、Huh-7 pcDNA3.1、Hep3B细胞系表达CK7/19、 β -catenin和CD34; (2)Huh-7、5-15细胞系表达CK19, 波形蛋白和Ki-67; (3)在基质胶中培养的Hep3B表达CK19, β -catenin和PTC; (4)HepG2表达CK18/19和 β -catenin. 这表明还有很多分子可能成为LCSCs的表面标志物, 目前发现的还是很少一部分.

4 侧群(side population, SP)细胞与LCSCs

到目前为止想通过寻求表面标志物的常规方法尚不能明确筛选出LCSCs, 而SP细胞在肿瘤干细胞学说中却越来越受到关注, 甚至有不少学者认为可以将SP细胞性质视作一种通用的CSCs分离标志. 鉴于SP细胞和CSCs存在密切的联系, 对SP细胞的研究必将对丰富和拓展肿瘤干细胞理论发挥巨大作用.

4.1 SP细胞 SP细胞是指一类能将进入细胞核的荧光染料Hoechst33342通过膜转运蛋白ABCG2排除细胞外的一类细胞. 1996年, Goodell *et al*^[32]在用检测细胞凋亡的方法Hoechst33342染色法研究骨髓细胞时, 发现有极少一部分细胞可以将进入细胞核的荧光染料排出细胞外, 在荧光显微镜下表现为不着色, 以后这类细胞即被命名为SP细胞, 这种性质也被命名为SP表型. SP表型与ABCG2/Bcrp1的ATP转运蛋白密切相关. SP细胞已经被证明广泛存在于人和动物的造血系统, 血液和许多重要组织器官中. SP细胞参与造血系统的重建, 组织的更新和再生以及成体干细胞的多器官可塑性等.

4.2 SP细胞与干细胞 SP细胞与干细胞具有很强的一致性, 有很强的自我更新和增殖分化的能力. Goodell *et al*^[32]发现仅占骨髓细胞0.1%的SP细胞, 能重建受致死剂量放射线照射的小鼠的髓系和淋巴系血细胞, 重建能力是普通骨髓细胞的1000倍. Hulspar *et al*^[33]通过原代分离小鼠胚胎神经球, 发现培养前后细胞群体中都有SP

细胞的存在, 如果将这些SP细胞单独培养, 细胞则会产生表型类似于新鲜分离的未培养的神经细胞. 但仍很多实验证实SP细胞与干细胞有不可忽视的差异性, Lichtenauer *et al*^[34]通过对肾上腺皮质的癌细胞系NCI-h295R的研究证实, 其SP细胞不具有干细胞特性. Burkert *et al*^[35]也指出, SP表型作为常用的干细胞标志并不适用于胃肠道癌细胞, Wu *et al*^[36]发现人和小鼠胶质瘤细胞系中表达CD133的细胞都具有干细胞特性, 然而这种成瘤能力很强的CD133阳性细胞似乎不具有SP表型.

SP细胞与CSCs关系密切. Setoguchi *et al*^[37]从c6神经胶质瘤细胞内分离得到SP细胞, 在体外一定的培养条件下, 能分化形成神经元和神经胶质细胞, 而在裸鼠体内, 则能在多种组织中形成肿瘤. 从肿瘤中分离出的SP细胞在体内可以再次形成肿瘤. 除了成瘤性之外, SP细胞还与CSCs具有相似的信号转导通路, Chiba *et al*^[38]对肝癌细胞中SP细胞进行基因分析后发现, SP细胞中Wnt通路相关基因(如FZD7、WNT5A、WNT6、CTNNB1和Jun基因)高表达. 因此推测SP细胞和CSCs具有一些共同的信号传导通路, 他们在肿瘤的发生和发展中起一定的作用.

4.3 SP细胞与肿瘤耐药性 肝癌的复发与转移是治疗中非常棘手的问题, 也是目前需要攻克的难点. 传统的放、化疗中, 有一部分细胞总是能成为肿瘤复发的新位点, 其本质可能是这部分细胞既具有干细胞的特性, 也具有抗药性, 与SP细胞有很大的联系. 其耐药机制可能与以下几个方面有关: (1)ABC转运蛋白的高表达. 该类蛋白在人体内大多承担着运输并外排的任务, 许多对肿瘤非干细胞具有抑制或杀伤作用的化疗药物对CSCs的杀伤作用被大大减弱了; (2)抗凋亡基因高表达: 除高水平表达Bcl-2外, CSCs耐药性也和其他抗凋亡基因的持续高表达有关; (3)具有自我更新能力: CSCs另一个重要的特性就是保持自我更新能力. 自我更新机制可能是促进肿瘤发展和转移的关键因素之一; (4)相对处于静止期时间较长: CSCs如果处于G₀期, 不分裂, 对作用于细胞周期或快速分化细胞的药物本身就有耐药性^[39]. 最近, 颜政 *et al*^[40]通过测定人肝细胞癌异质性亚群细胞在不同浓度、不同化疗药物作用下的抑制率, 计算检测耐药相关蛋白的表达率发现LCSCs-1和LCSCs-2亚群细胞对阿霉素(ADM)、顺铂(DDP)、鬼臼乙叉苷(VP-16)等药物都产生了耐药性, 得出结论

■创新盘点

本综述将肝癌干细胞的表面标志物进行了分类, 可以使读者对其进行系统性地研究. 除此之外, 本文还重点介绍了侧群细胞, 较为详细地综述了其与干细胞、肿瘤耐药性和肝癌干细胞的关系.

■应用要点

本综述重点介绍了肝癌干细胞的表面标志物和侧群细胞。表面标志物可以指导研究人员对肝癌干细胞进行识别和分离。而侧群细胞的性状可以作为识别肝癌干细胞的通用标准。这两方面的研究可以进一步证实肝癌干细胞的存在,从而实现对肝癌的靶向治疗。

MRP、LRP、GST、MDR1的高表达,可能是人肝癌细胞异质性亚群多耐药产生的部分分子基础。

4.4 SP细胞与LCSCs Shi *et al*^[41]使用流式细胞仪从不同的肝癌细胞系中分离出SP细胞,通过检测发现所有来源的SP细胞均出现一致的特征:自我更新、高程度的集落生成、显著的耐药性和高度表达ABCG2,并且移植在免疫缺陷小鼠体内可产生肿瘤。因此得出结论来自肝癌组织的SP细胞具有LCSCs的特征。Chiba *et al*^[38]在肝癌细胞系Huh7和PLC/PRE/5中分选出SP细胞,分别占0.8%和0.25%,SP细胞具有高增殖潜能和抗凋亡特性。奚忠 *et al*^[42]研究发现SP细胞表面的转运蛋白ABCG2在肝细胞性肝癌的发生发展过程中可能起着非常重要的作用,有可能成为临床治疗肝细胞性肝癌的分子靶标。SP细胞与LCSCs的关系研究还在起步阶段,目前还是应该从主要的表面标志蛋白入手,先弄清二者的在分离纯化上是否有内在的联系,再进一步深入弄清将来在治疗策略上SP细胞到底会不会给我们以新的启发。

5 LCSCs靶向治疗策略

随着CSCs理论的不成熟,以LCSCs为靶标的靶向治疗策略将成为目前肝癌治疗的新方向,其具有治疗特异性强、效果显著、基本不损伤正常组织的优点。

LCSCs的靶向治疗要求精确和对周围组织的损伤最小。可构思出两个方向:一是研制能够抑制LCSCs特异性蛋白的药物,通过介入治疗的方法将药物准确送至LCSCs周围,作用于LCSCs,控制其继续分化和恶变,从而控制住肝癌的转移和复发,再结合放、化疗,有望能很好地控制肝癌组织的快速扩大,大大延长肝癌患者的寿命,甚至彻底治愈肝癌;二是在明确了LCSCs表面标志物之后,通过与表面分子的特异性结合,能够将一些抗癌、抑癌基因送入LCSCs中,改变其恶化状态,即在基因治疗层面对肝癌进行控制。在结合SP细胞与LCSCs的研究中发现其与肝癌的化疗和放疗都有关联。

目前一些研究提示抑制ABCG2/Bcrp1的表达能够增强肿瘤组织对化学毒物的敏感性,或者说可以降低肿瘤组织的耐药性。放射线是通过DNA和生物大分子的直接和间接损伤来杀灭肿瘤细胞的,这些损伤的过程中存在细胞中大量氧自由基的产生,SP细胞这种排出细胞毒

性物质的特点可能使其幸免损伤而产生放射性拮抗,其具有的干细胞特点是肿瘤残存和复发的原因。因此针对SP细胞的治疗可能提高肿瘤对放射治疗的敏感性。

6 结论

尽管各类可能成为LCSCs的表面标志物特异性蛋白类别的不断拓展以及与LCSCs关系的不断明确,越来越多的证据表明LCSCs存在的可能性,但要真正从人肝癌组织中分离纯化出LCSCs并对其进行针对性的研究,仍有不少现实问题亟待解决。如在体外如何培养大量高纯度的LCSCs以供研究,如何建立稳定的LCSCs培养系统,如何在培养过程中有效利用生长诱导因子等进行有效调控,LCSCs在体外分离脱离微环境之后是否会变性,LCSCs与其微环境的关系,LCSCs系相关的信号传递通路与介质,如何在肝癌中对LCSCs进行定向诱导等问题。

7 参考文献

- 1 Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105-111
- 2 Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730-737
- 3 Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 3983-3988
- 4 Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005; 65: 10946-10951
- 5 Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, Lawrence S, Babar I, Vogel S, Crowley D, Bronson RT, Jacks T. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 2005; 121: 823-835
- 6 Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, Dirks PB. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003; 63: 5821-5828
- 7 Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1030-1037
- 8 Robrechts C, De Vos R, Van den Heuvel M, Van Cutsem E, Van Damme B, Desmet V, Roskams T. Primary liver tumour of intermediate (hepatocyte-bile duct cell) phenotype: a progenitor cell tumour? *Liver* 1998; 18: 288-293
- 9 Parent R, Marion MJ, Furio L, Trépo C, Petit MA. Origin and characterization of a human bipotent liver progenitor cell line. *Gastroenterology* 2004; 126: 1147-1156
- 10 Song W, Li H, Tao K, Li R, Song Z, Zhao Q, Zhang F, Dou K. Expression and clinical significance of the stem cell marker CD133 in hepatocellular

- carcinoma. *Int J Clin Pract* 2008; 62: 1212-1218
- 11 Gournay J, Auvigne I, Pichard V, Ligeza C, Bralet MP, Ferry N. In vivo cell lineage analysis during chemical hepatocarcinogenesis in rats using retroviral-mediated gene transfer: evidence for dedifferentiation of mature hepatocytes. *Lab Invest* 2002; 82: 781-788
- 12 Bralet MP, Pichard V, Ferry N. Demonstration of direct lineage between hepatocytes and hepatocellular carcinoma in diethylnitrosamine-treated rats. *Hepatology* 2002; 36: 623-630
- 13 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170
- 14 Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Henegariu O, Krause DS. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000; 32: 11-16
- 15 Bae SH, Choi JY, Yoon SK, Oh IH, Yoon KH, Park ST, Kim GD, Oh SH, Petersen BE. Thy1-positive bone marrow stem cells express liver-specific genes in vitro and can mature into hepatocytes in vivo. *Hepatol Int* 2008; 2: 63-71
- 16 施晓雷, 毛凉, 许碧云, 谢婷, 朱章华, 陈军浩, 李雷, 丁义涛. 小鼠骨髓基质干细胞体外转化为肝细胞最佳诱导体系的筛选及验证. *世界华人消化杂志* 2008; 23: 2217-2223
- 17 Li C, Kong Y, Wang H, Wang S, Yu H, Liu X, Yang L, Jiang X, Li L, Li L. Homing of bone marrow mesenchymal stem cells mediated by sphingosine 1-phosphate contributes to liver fibrosis. *J Hepatol* 2009; 50: 1174-1183
- 18 Dumble ML, Croager EJ, Yeoh GC, Quail EA. Generation and characterization of p53 null transformed hepatic progenitor cells: oval cells give rise to hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2002; 23: 435-445
- 19 Grozdanov PN, Yovchev MI, Dabeva MD. The oncofetal protein glypican-3 is a novel marker of hepatic progenitor/oval cells. *Lab Invest* 2006; 86: 1272-1284
- 20 Chiba T, Zheng YW, Kita K, Yokosuka O, Saisho H, Onodera M, Miyoshi H, Nakano M, Zen Y, Nakanuma Y, Nakauchi H, Iwama A, Taniguchi H. Enhanced self-renewal capability in hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation. *Gastroenterology* 2007; 133: 937-950
- 21 Yamashita T, Ji J, Budhu A, Forgues M, Yang W, Wang HY, Jia H, Ye Q, Qin LX, Wauthier E, Reid LM, Minato H, Honda M, Kaneko S, Tang ZY, Wang XW. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features. *Gastroenterology* 2009; 136: 1012-1024
- 22 Yamashita T, Forgues M, Wang W, Kim JW, Ye Q, Jia H, Budhu A, Zanetti KA, Chen Y, Qin LX, Tang ZY, Wang XW. EpCAM and alpha-fetoprotein expression defines novel prognostic subtypes of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 1451-1461
- 23 Ishikawa K, Sasaki A, Haraguchi N, Yoshikawa Y, Mori M. A case of an alpha-fetoprotein-producing intrahepatic cholangiocarcinoma suggests probable cancer stem cell origin. *Oncologist* 2007; 12: 320-324
- 24 Yang ZF, Ho DW, Ng MN, Lau CK, Yu WC, Ngai P, Chu PW, Lam CT, Poon RT, Fan ST. Significance of CD90+ cancer stem cells in human liver cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 153-166
- 25 Ma S, Chan KW, Hu L, Lee TK, Wo JY, Ng IO, Zheng BJ, Guan XY. Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells. *Gastroenterology* 2007; 132: 2542-2556
- 26 Salnikov AV, Kusumawidjaja G, Rausch V, Bruns H, Gross W, Khamidjanov A, Ryschich E, Gebhard MM, Moldenhauer G, Büchler MW, Schemmer P, Herr I. Cancer stem cell marker expression in hepatocellular carcinoma and liver metastases is not sufficient as single prognostic parameter. *Cancer Lett* 2009; 275: 185-193
- 27 Zhang F, Chen XP, Zhang W, Dong HH, Xiang S, Zhang WG, Zhang BX. Combined hepatocellular cholangiocarcinoma originating from hepatic progenitor cells: immunohistochemical and double-fluorescence immunostaining evidence. *Histopathology* 2008; 52: 224-232
- 28 颜政, 方驰华, 高鹏. 人原发肝细胞癌干细胞表面标志的初步研究. *南方医科大学学报* 2006; 26: 1304-1306
- 29 王阁, 索金友, 邓婧, 杨进, 郑继军, 王红中, 胡庆, 李增鹏, 肖华亮, 王东. 原发性肝癌不同病理组织类型中肝干细胞的起源分析. *第三军医大学学报* 2006; 28: 114-116
- 30 Durnez A, Verslype C, Nevens F, Fevery J, Aerts R, Pirenne J, Lesaffre E, Libbrecht L, Desmet V, Roskams T. The clinicopathological and prognostic relevance of cytokeratin 7 and 19 expression in hepatocellular carcinoma. A possible progenitor cell origin. *Histopathology* 2006; 49: 138-151
- 31 Jabari S, Meissnitzer M, Quint K, Gahr S, Wissniowski T, Hahn EG, Neureiter D, Ocker M. Cellular plasticity of trans- and dedifferentiation markers in human hepatoma cells in vitro and in vivo. *Int J Oncol* 2009; 35: 69-80
- 32 Goodell MA, Brose K, Paradis G, Conner AS, Mulligan RC. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med* 1996; 183: 1797-1806
- 33 Hulspar R, Quesenberry PJ. Characterization of neurosphere cell phenotypes by flow cytometry. *Cytometry* 2000; 40: 245-250
- 34 Lichtenauer UD, Shapiro I, Geiger K, Quinkler M, Fassnacht M, Nitschke R, Rückauer KD, Beuschlein F. Side population does not define stem cell-like cancer cells in the adrenocortical carcinoma cell line NCI h295R. *Endocrinology* 2008; 149: 1314-1322
- 35 Burkert J, Otto WR, Wright NA. Side populations of gastrointestinal cancers are not enriched in stem cells. *J Pathol* 2008; 214: 564-573
- 36 Wu A, Oh S, Wiesner SM, Ericson K, Chen L, Hall WA, Champoux PE, Low WC, Ohlfest JR. Persistence of CD133+ cells in human and mouse glioma cell lines: detailed characterization of GL261 glioma cells with cancer stem cell-like properties. *Stem Cells Dev* 2008; 17: 173-184
- 37 Setoguchi T, Taga T, Kondo T. Cancer stem cells persist in many cancer cell lines. *Cell Cycle* 2004; 3: 414-415
- 38 Chiba T, Kita K, Zheng YW, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, Nakauchi H, Taniguchi H. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. *Hepatology* 2006; 44: 240-251
- 39 欧扬, 郭秀丽. 肿瘤干细胞及其耐药机制. *生理科学进展* 2007; 38: 115-119
- 40 颜政, 方驰华. 人肝细胞癌细胞亚群的克隆分离及异

■同行评价

本文综述了肝癌干细胞研究进展, 内容较为新颖, 有一定可读性。

- 质性机制的初步研究. 世界华人消化杂志 2006; 14: 481-485
- 41 Shi GM, Xu Y, Fan J, Zhou J, Yang XR, Qiu SJ, Liao Y, Wu WZ, Ji Y, Ke AW, Ding ZB, He YZ, Wu B, Yang GH, Qin WZ, Zhang W, Zhu J, Min ZH, Wu ZQ. Identification of side population cells in human hepatocellular carcinoma cell lines with stepwise metastatic potentials. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 1155-1163
- 42 奚忠, 江春平, 丁义涛. ABCG2在肝细胞性肝癌组织和肝癌细胞株中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2009; 17: 247-252

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与世界华人消化杂志的合法权益, 本刊对修回稿要求如下.

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将修改后的稿件及光盘寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须经得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录. (科学编辑: 李军亮 2009-12-28)