

PEX 与胶质瘤干细胞微环境相关性研究

黄炜 综述 牛朝诗 审校

安徽医科大学附属省立医院神经外科,安徽 合肥 230001

摘要:胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs)生存和自我更新依赖由多种可溶性分子以及间质细胞组成的微环境。基质金属蛋白酶(MMPs)是由多种锌离子依赖性酶组成的能降解细胞外基质蛋白的重要酶类, MMPs 激活与恶性胶质瘤的生长、侵袭以及转移密切相关。PEX 是大多数 MMPs 在羧基末端都含有的血红素结合蛋白样结构域,近年来研究证明 PEX 是 MMPs 内源性抑制剂,抑制 MMPs 的活性从而影响胶质瘤干细胞微环境,破坏胶质瘤干细胞的相对稳态来阻止胶质瘤的增殖、侵袭和转移。PEX 基因的发现给胶质瘤的治疗带来了新思路。因此,本文就 PEX 基因与胶质瘤干细胞微环境的关系作一综述。

关键词:胶质瘤干细胞;血红素结合蛋白样结构域;微环境

近些年的研究证明胶质瘤干细胞生长如同神经干细胞(neural stem cell, NSC)一样同样需要微环境,其构成由肿瘤细胞本身,间质细胞,微血管,组织液,少量的浸润细胞和细胞因子组成^[1,2]。研究发现胶质瘤的侵袭转移与微环境中的基质金属蛋白酶有着密切的关系。而 MMPs 羧基末端的结构域 PEX 近年来受到很大关注,因为实验发现 PEX 是 MMPs 内源性抑制剂^[3],从而可以阻止肿瘤细胞的生长、增殖以及抑制肿瘤血管的产生。可以看出,胶质瘤干细胞的微环境与 PEX 基因之间可能存在某种联系,因此我们利用这两者之间的相互关系并对其进行探讨,为胶质瘤的基因治疗提供一个新的思路。

1 胶质瘤干细胞微环境

正常神经干细胞自我更新和避免分化需要微环境^[4],胶质瘤干细胞可能来源于神经干细胞,因为两者在细胞表型、归巢现象和基因表达上有很多相似性。Recht 等^[5]利用致瘤模型,证实了 NSC 的致瘤性。如果胶质瘤干细胞来源于正常神经干细胞,那么可以推想可能存在某种胶质瘤干细胞赖以自我更新及生长增殖的微环境。Calabrese 等^[6]利用免疫荧光技术证明胶质瘤干细胞在血管周围聚集分布,CD133 + 脑肿瘤细胞具有胶质瘤干细胞的特点。胶质瘤细胞与血管内皮细胞体外共同培养中,CD133 + 比 CD133-的胶质瘤细胞更加容易与

血管内皮细胞发生直接接触;与单纯胶质瘤细胞移植相比,接受 CD133 + 胶质瘤细胞与血管内皮细胞共同移植的肿瘤生长速度更快,胶质瘤干细胞的数量也显著增加,而用星形胶质细胞替代血管内皮细胞共移植没出现此现象,说明胶质瘤干细胞的生存增殖确实存在特有的微环境,而血管内皮细胞在微环境中起着主导作用。

2 胶质瘤干细胞与微环境之间的作用

胶质瘤干细胞微环境是个复杂的综合系统,其中含有各种基质细胞,包括成纤维细胞、免疫和炎症细胞、脂肪细胞、胶质细胞、平滑肌细胞以及一些血管细胞等^[7]。这些细胞可以被肿瘤细胞诱导,在其周围产生大量的生长因子、细胞趋化因子以及基质降解酶,有利于胶质瘤细胞的增殖和侵袭,这个复杂的系统是胶质瘤干细胞赖以生存的基础。肿瘤细胞通过细胞因子与基质细胞相互作用维持自我更新的能力。

“血管生成之父”Folkman 认为^[8],当肿瘤直径长至 1 ~ 2 mm 时,肿瘤组织会诱导血管生成以满足自身无限增殖的营养需求。Calabrese 等^[6]的研究证明,内皮细胞及其产生的细胞因子与胶质瘤干细胞的自我更新有着密切的联系。在胶质瘤移植体中增加内皮细胞的数量或者血管的数量,可以促进肿瘤的生长和增加自我更新的肿瘤干细胞的数量,两者成正比关系。相反,如果减少内皮细胞的数量

基金项目:国家自然科学基金项目(项目编号 30672166)

收稿日期:2010-10-25; **修回日期:**2011-01-17

作者简介:黄炜(1985-),男,在读硕士研究生,主要从事神经肿瘤研究。

通讯作者:牛朝诗(1963-),男,主任医师,教授,博士生导师,主要从事神经肿瘤基础与临床研究。

量,肿瘤则生长缓慢,肿瘤干细胞自我更新的能力减弱。而胶质瘤干细胞自我更新增殖导致肿瘤内部缺氧,缺氧的微环境促进血管内皮生长因子(VEGF)的表达^[9]。另外,肿瘤干细胞通过产生大量的生长因子和蛋白水解酶调节肿瘤基质环境并以旁分泌的形式诱导血管生成^[10]。同时,还可以激活肿瘤基质中的各型细胞而活化肿瘤基质,基质细胞活化后会分泌胰岛素依赖性生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、肝细胞生长因子(HGF)等多种细胞因子,对肿瘤的恶性转化起促进作用。

3 MMPs 与 PEX 在胶质瘤微环境中的作用

3.1 胶质瘤侵袭的武器——MMPs

MMPs 是由多种锌离子依赖性酶组成的能降解细胞外基质蛋白的重要酶类,其激活与恶性胶质瘤的生长、侵袭、转移密切相关。Friebberg 等^[11]检测了 66 例患者脑脊液的明胶酶活性,结果显示,29 例恶性星形细胞瘤和 10 例脑转移瘤患者的脑脊液中均检出活化的 MMP22、MMP29,而对照组仅检测出 MMP22 前体。MMP 不仅是降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM)最重要的酶,而且能促进肿瘤血管的形成。Raithatha 等^[12]应用原位杂交和免疫组织化学技术检测恶性脑胶质瘤标本,发现肿瘤细胞及其血中均有 MMP22、MMP29 mRNA 表达。因此认为 MMP 在肿瘤细胞及其间质中均可产生,其表明胶质瘤具有侵袭性和促进血管的生成。

3.2 胶质瘤新型杀手——PEX

PEX 是除了 MMP-7、MMP-23 和 MMP-26 以外所有 MMPs 在羧基末端都含有的 1 个血红素结合蛋白样结构域,并且它可通过 MMPs 的自身作用被降解下来,产生 1 分子质量为 29 Ku-32 Ku 的 PEX 片段。在人类胶质瘤 PEX 可以通过色谱分析法在胶质瘤细胞系的培养基中提取到。有研究证明 PEX 能够抑制胶质瘤的血管发生,细胞增殖和迁移^[3]。这为 PEX 与胶质瘤微环境的研究提供了一个重要的平台。

目前 MMPs-2 和 MMPs-9 在肿瘤方面影响的研究比较深入,这两种基质蛋白酶的 PEX 片段与胶质瘤微环境相互作用,影响着肿瘤血管的生长和胶质瘤细胞的增殖以及转移。Bello 等通过研究证明从人类肿瘤组织中提取的 PEX 能够分别在活体外和活体内抑制胶质瘤细胞和血管的增殖以及转移。并且采用色谱分析法从胶质瘤组织中提纯出 MMP-

2-PEX,并且证明了 MMP-2-PEX 在活体外能够阻止胶质瘤细胞和内皮细胞与成纤维细胞生长因子-2(FGF-2)、玻连蛋白以及整合素 $\alpha v \beta 3$ 的粘附,从而阻止了胶质瘤细胞和内皮细胞的迁移,诱导了内皮细胞的凋亡^[3]。PEX 的表达与组织学亚型、肿瘤恶性程度以及能与它相结合的整合素 $\alpha v \beta 3$ 表达相关。FGF-2 和 $\alpha v \beta 3$ 两者均是胶质瘤干细胞微环境中重要的细胞外因子。FGF-2 可以活化成纤维细胞使之成为癌相关成纤维细胞(CAFs); CAFs 又可以分泌 MMPs 与大量的生长因子如 HGF、FGF-2,这些因子作用于邻近的上皮细胞,诱导增殖信号,这种微环境之间的相互作用加速胶质瘤的生长^[13,14]。而作为细胞膜黏附受体的整合素 $\alpha v \beta 3$ 能与基质金属蛋白酶和细胞外基质相互作用,从而促进多种恶性肿瘤细胞的增殖和转移^[15]。刘学勇等通过整合素 $\alpha v \beta 3$ 抗体对体外培养大鼠 C6 脑胶质瘤细胞增殖影响的研究,表明不同浓度整合素 $\alpha v \beta 3$ 抗体可以明显抑制大鼠 C6 脑胶质瘤细胞的增殖,间接地证实整合素 $\alpha v \beta 3$ 对大鼠 C6 脑胶质瘤细胞增殖有促进作用^[16]。另外,近年有报道证明 MMP-9-PEX 与 MMP-2-PEX 有相似的作用,能够诱导内皮细胞凋亡,减少血管内皮生长因子及其受体的表达,来抑制胶质瘤微血管的生成和胶质瘤的侵袭^[17]。

4 PEX 治疗胶质瘤的前景及存在的问题

胶质瘤在颅内的侵袭性生长和大量的新生血管形成是其主要的恶性生物学行为特点,也是导致其预后不佳及容易复发的主要原因。胶质瘤的侵袭过程涉及黏附分子、酶、信号传递、基因调控等多方面多分子水平的因素,它们各自作用于不同的环节,但相互之间又存在广泛的联系,形成一个复杂的网络,共同促进胶质瘤的侵袭性。总体上,肿瘤侵袭过程包括 3 个重要的环节:受体介导的肿瘤细胞对细胞外基质的黏附;肿瘤分泌的蛋白酶对细胞外基质进行降解;肿瘤迁徙到新的部位,诱导肿瘤血管生成以促进肿瘤生长。Breier 等^[18]应用多光子激光扫描显微技术(MPLSM)证明胶质瘤的侵袭性与肿瘤血管新生存在着非常密切的关系。前面我们已经探讨了 PEX 能够通过粘附分子、酶、信号传导多方面减少胶质瘤微血管的生成,抑制胶质瘤细胞的增殖及迁移。总的说来,PEX 扮演的就是从基因调控方面对肿瘤干细胞微环境进行干涉,破坏微环境的稳态,并且破坏的是内皮细胞这个微

环境中起主导作用的因素,干扰胶质瘤细胞生存所需要的营养途径,使得肿瘤细胞凋亡。所以 PEX 与胶质瘤干细胞微环境之间的这种相互作用必将成为胶质瘤治疗手段的新亮点。

总之,胶质瘤是人类最常见的脑肿瘤。传统的治疗方法包括手术、放疗和化疗,治疗效果有限,尤其是高级别胶质瘤,发病率和死亡率仍然较高^[19],迫使人们去寻找新的治疗方法。胶质瘤干细胞微环境学说的提出和 PEX 基因的发现为胶质瘤的治疗提供了新的途径。微环境除了调节干细胞的增殖、自我更新和分化外,也有保护干细胞免受环境损伤的作用^[20],加上胶质瘤干细胞自身有很强的耐药性和耐辐射性^[21],所以肿瘤复发的几率很高。针对微环境,采用 PEX 基因靶向治疗胶质瘤是新的选择。PEX 基因促使内皮细胞凋亡,减少促血管生成因子表达,与 $\alpha v\beta 3$ 结合阻止 MMPs 活化等诸多功能促使更多的学者对其展开更深的研究。已有相关研究构建 PEX 基因真核载体,徐传杰等通过在体外 BpcDNA-sPEX 成功转染胶质瘤细胞,并且证明 PEX 基因能够抑制由 bFGF 诱导的 CAM 血管的新生、PEX 基因能够阻抑 bFGF 对小管形成的促进作用^[22]。高歌等将 PEX 真核载体成功转染骨髓间充质干细胞(hMSC),hMSC 有趋胶质瘤性,弥补了既往基因治疗所用包装细胞的不足,为恶性胶质瘤的基因治疗开辟一条安全、有效、特异性强和有临床应用价值的新途径^[23]。并且在此基础上将转染的 hMSC 分离出来与 C6 胶质瘤细胞共培养证实了其有显著的干扰胶质瘤细胞增殖和促进凋亡的功能^[24]。但是肿瘤干细胞微环境模型的研究还处于初步阶段,众多学者通过研究各自提出了自己的见解。Albini 等^[25]认为肿瘤干细胞微环境可以作为化学预防治疗癌症的靶点,化学预防可以在早期对致癌因素进行控制,通过对微环境中多种细胞及细胞因子的干预而影响肿瘤表型。Joyce^[26]认为肿瘤干细胞微环境靶点众多,从中挑选最重要的分子靶点是第一步,而弄清微环境中各种因子分子水平的变化将会是确定靶点的关键。尽管如此,肿瘤干细胞微环境模型研究尚不成熟,因此也决定了以肿瘤干细胞微环境为目标的治疗方法尚需更多的基础和临床试验来解释说明。

参 考 文 献

[1] Piccirillo SG, Reynolds BA, Zanetti N, et al. Bone morpho-

genetic proteins inhibit the tumorigenic potential of human brain tumour-initiating cells. *Nature*, 2006, 444(7120): 761-765.

- [2] Lin H. The stem-cell niche theory: lessons from flies. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(12): 931-940.
- [3] Bello L, Lucini V, Carrabba G, et al. Simultaneous inhibition of glioma angiogenesis, cell proliferation and invasion by a naturally occurring fragment of human metalloproteinase-2. *Cancer-Res*, 2001, 61(24): 8730-8736.
- [4] Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. Stem cells find their Niche. *Nature*, 2001, 414: 98-104.
- [5] Recht I, Jang T, Savarese T, et al. Neural stem cells and neuro-oncology: quo vadis? *Cell Biochem*, 2003, 88(1): 11-9.
- [6] Christopher Calabrese, Helen Poppleton, Mehmet Kocak, et al. A Perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell*, 2006, 11: 1-20.
- [7] Sung SY, Hsieh CL, Wu D, et al. Tumor microenvironment promotes cancer progression, metastasis, and therapeutic resistance. *Curr Probl Cancer*, 2007, 31(2): 36-100.
- [8] Folkman J. Fundamental concepts of the angiogenic process. *CurrMol Med*, 2003, 3(7): 643-651.
- [9] Veemvagu A, Hsu AR, Cai W, et al. Vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor inhibitors anti-angiogenic agents in cancer therapy. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2007, 2(1): 59-71.
- [10] Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(6): 401-410.
- [11] Friedberg MH, Glantz MJ, Klempner MS, et al. Specific matrix metalloproteinase profiles in the cerebrospinal fluid correlated with the presence of malignant astrocytomas, brain metastases, and carcinomatous meningitis. *Cancer*, 1998, 82(5): 923-930.
- [12] Raithatha SA, Muzik H, Muzik H, et al. Localization of gelatinaseA and gelatinaseB mRNA and protein in human gliomas. *Neuro Oncol*, 2000, 2(3): 145-150.
- [13] Zeisbergm, Strutz F, Müller GA. Role of fibroblast activation in inducing interstitial fibrosis. *Nephrol*, 2000, Suppl 3: S111-20.
- [14] Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature*, 2004, 432(7015): 332-337.
- [15] Vanden Berg SR, Bergers G, et al. Integrin beta3 over-expression suppresses tumor growth in a human model of gliomagenesis: implications for the role of beta3 over-expression in Glioblastoma mutiforme. *Cancer Res*, 2004, 64(8): 2751-2758.
- [16] 刘学勇,曾浩然,张红欣等,整合素 $\alpha v\beta 3$ 对大鼠 C6 脑胶质瘤细胞影响的实验研究. *中国厂矿医学*, 2009,

22(2):134-136

- [17] Ezhilarasan R, Jadhav U, Mohanam I, et al. The hemopexin domain of MMP-9 inhibits angiogenesis and retards the growth of intracranial glioblastoma xenograft in nude mice. *Cancer*, 2009, 124: 306-315.
- [18] Breier G, Lieht AH, Nicolaus A, et al. HIF in vascular development and tumour angiogenesis. *Novartis Found Symp*, 2007, (283) 126-133.
- [19] MacDonald T J, Rood BR, Santi MR, et al. Advances in the diagnosis, molecular genetics, and treatment of pediatric embryonal CNS tumors. *Oncologist*, 2003, 8(2): 174-186.
- [20] Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science*, 2006, 311(5769): 1880-1885.
- [21] Marin L, Minguela A, Torio A, et al. Flow cytometric quantification of apoptosis and proliferation in mixed lymphocyte cul-

ture. *Cytometry A*, 2003, 51(2):107-118.

- [22] 徐传杰, 刘林林, 王贵全, 等. PEX 基因在肿瘤细胞中的表达及其体外对微血管生成的影响. *实验诊断学*, 2010, 14(1):14-16
- [23] 高歌, 牛朝诗, 董永飞, 等. PEX 基因修饰人骨髓间质干细胞体外培养鉴定的研究. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2009, 14(8):361-363
- [24] 高歌, 牛朝诗, 张俊等. PEX 基因修饰骨髓间质干细胞对 C6 胶质瘤细胞增殖和凋亡的影响. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2010, 15(4):175-177
- [25] Albini A, Sporn MB. The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(2): 139-147.
- [26] Joyce JA. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment. *Cancer Cell*, 2005, 7(6):513-520.

神经干细胞移植治疗高血压脑出血的研究进展

王志军 综述 薛洪利 审校
沈阳军区总医院, 辽宁 沈阳 110016

摘要:干细胞移植作为脑出血可能的治疗方法之一,动物实验研究表明移植细胞不但能够在脑内存活,而且促进神经功能恢复。作为一种可能治疗方法,干细胞在临床上的实验已经开始。本文就神经干细胞移植的可能机理、动物实验及在脑出血治疗方面的研究现状进行综述。

关键词:神经干细胞;移植;脑出血

脑出血以 50 岁左右高血压病人最常见,发病率、残疾率高,各种治疗方法虽在一程度上挽救了患者生命或改善者残疾状态,但不能从根本上治愈,人们希望通过神经干细胞替代治疗,达到预期效果。目前,关于神经干细胞的研究及移植主要用于动物试验,在临床应用方面还处于初级阶段。临床用于试验性治疗较多的有脑缺血性疾病、帕金森病等。也有不少报道显示神经干细胞移植可以在一定程度上改善脑出血患者的残疾状态,改善生活质量。

1 神经干细胞移植机理

神经干细胞主要来源于胚胎干细胞、成体神经

干细胞、骨髓间质干细胞、人脐带血细胞、人类脂肪间充质细胞。各类干细胞共有的生特学特性是有自我更新能力以及能通过不对称分裂产生除自我子代以外的其它类型细胞。神经干细胞的临床应用潜能源自它的生物学特性,神经干细胞及其子代细胞能在宿主脑内的许多区域发育成多种神经细胞,如神经元、少突胶质细胞、星形胶质细胞,未成熟的神经祖细胞以及能替代许多功能缺失的或功能异常的神经细胞,并发挥原有受损神经细胞的功能,其机制可能是:①在神经元之间形成突触中继,重建或增加了神经元回路;②通过突触中继的形成使轴突主动再生;③为轴突再生提供基质;④

收稿日期:2010-06-24;修回日期:2011-01-17

作者简介:王志军(1978-),男,神经外科硕士研究生。临床医师,主要从及神经干细胞治疗脑疾病的研究。