

- histochemical expression levels of androgen, estrogen, progesterone and Ki-67 receptors in relationship with gross-total resected meningiomas relapse. *Br J Neurosurg*, 2012, 26 (5): 700-704.
- [13] Babu S, Uppin SG, Uppin MS, et al. Meningiomas: correlation of Ki67 with histological grade. *Neurol India*, 2011, 59 (2): 204-207.
- [14] Pećina-Slaus N, Nikuseva Marti? T, Deak AJ, et al. Genetic and protein changes of E-cadherin in meningiomas. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(5): 695-702.
- [15] Pecina-Slaus N, Cievvara-Pecina T, Kafka A. Epithelial-to-mesenchymal transition: possible role in meningiomas. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2012, 4: 889-896.
- [16] Zhou K, Wang G, Wang Y, et al. The Potential Involvement of E-cadherin and β -catenins in Meningioma. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11231.
- [17] Nagaishi M, Nobusawa S, Tanaka Y, et al. Slug, Twist, and E-Cadherin as immunohistochemical biomarkers in meningeal tumors. *PLoS One*, 2012, 7(9): e46053.
- [18] Utsuki S, Oka H, Sato Y, et al. Invasive meningioma is associated with a low expression of E-cadherin and beta-catenin. *Clin Neuropathol*, 2005, 24(1): 8-12.
- [19] Okudusu AF, Zils U, Michaelis SA, et al. Ets-1 is up-regulated together with its target gene products matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in atypical and anaplastic meningiomas. *Histopathology*, 2006, 48(7): 836-845.
- [20] Barresi V, Vitarelli E, Tuccari G, et al. MMP-9 expression in meningiomas: a prognostic marker for recurrence risk? *J Neurooncol*, 2011, 102(2): 189-196.
- [21] Pei J, Jung S, Jin SG, et al. Possible role of matrix metalloproteinases (MMPs) in hyperostosis of intracranial meningiomas. *Acta Neurochir (Wien)*, 2012 Apr, 154(4): 611-620.
- [22] Salehi F, Jalali S, Alkins R, et al. Proteins involved in regulating bone invasion in skull base meningiomas. *Acta Neurochir (Wien)*, 2013, 155(3): 421-427.
- [23] Kandenwein JA, Park-Simon TW, Schramm J, et al. uPA/PAI-1 expression and uPA promoter methylation in meningiomas. *J Neurooncol*, 2011, 103(3): 533-539.
- [24] Gogineni VR, Gupta R, Nalla AK, et al. uPAR and cathepsin B shRNA impedes TGF- β 1-driven proliferation and invasion of meningioma cells in a XIAP-dependent pathway. *Cell Death Dis*, 2012 Dec 6, 3: e439.
- [25] Lin CK, Tsai WC, Lin YC, et al. Osteopontin predicts the behaviour of atypical meningioma. *Histopathology*, 2012, 60(2): 320-325.
- [26] Tseng KY, Chung MH, Sytwu HK, et al. Osteopontin expression is a valuable marker for prediction of short-term recurrence in WHO grade I benign meningiomas. *J Neurooncol*, 2010, 100(2): 217-223.

间充质干细胞载体基因治疗恶性胶质瘤研究进展

张海旺 综述 陈礼刚 审校

泸州医学院附属医院神经外科,四川 泸州 646000

摘要:间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有肿瘤趋向性生长的能力,并具有抑制肿瘤生长的特性,提示其可能成为治疗恶性胶质瘤的有效载体。MSCs 可将特定的细胞因子运至恶性胶质瘤细胞从而发挥抗肿瘤作用,还可通过向恶性胶质瘤分泌抑瘤因子等机制发挥抗肿瘤作用,在恶性胶质瘤的基因治疗中有良好的应用前景。本文就 MSCs 在恶性胶质瘤基因治疗的研究进展作一综述。

关键词:基因治疗;恶性胶质瘤;载体

胶质瘤是颅内最常见恶性肿瘤。特别是 III 级胶质瘤(间变性星形细胞瘤、间变性少突星形细胞瘤及间变性少突胶质细胞瘤等)和 IV 级胶质瘤(多

形性胶质母细胞瘤等),肿瘤生长快和生存期短,常又被称为恶性胶质瘤,约占胶质瘤的四分之三以上。目前,恶性胶质瘤治疗原则是尽可能手术全

收稿日期:2013-04-07;修回日期:2013-07-15

作者简介:张海旺(1987-),男,泸州医学院在读研究生,研究生在读方向为立体定向及功能神经外科。

通讯作者:陈礼刚(1966-),男,教授,主任医师,主要从事脑肿瘤的基础及临床研究。

切、术后伴随同步放化疗,虽然症状有所改善,但长期效果仍不理想,人们在不断地寻求更加切实有效的治疗方法,其中基因治疗备受关注。

基因治疗是指通过向组织或靶细胞导入外源性基因来补偿或纠正基因的缺失,抑制异常基因的表达,达到治疗疾病的目的。基因治疗起初用病毒作为载体,但限于其没有特异趋瘤性,只能浸润在肿瘤周围的组织当中,不能很好地追踪癌细胞,疗效不理想,制约了临床大规模的应用。研究者发现 MSCs 具有肿瘤趋向性和向肿瘤血管生长的特性是基因治疗切实可行的途径,用 MSCs 作为治疗运载工具收到很高的期待。

1 MSCs 的概述及特性

MSCs 源自未成熟的胚胎结缔组织细胞,是可形成多种细胞类型的多能干细胞,也是具有耐有毒化合物和非对称分裂特性的细胞^[1]。MSCs 包括来自骨髓的骨髓 MSCs (bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)、脂肪组织的脂肪 MSCs (adipose tissue mesenchymal stem cells, AT-MSCs)、脐带血的脐带血 MSCs (umbilical cord blood mesenchymal stem cells, UCB-MSCs) 等。与其它干细胞(神经干细胞、胚胎干细胞等)相比,该细胞除具备干细胞的基本特征外,还具有来源丰富、提取方便、容易分离纯化及体外扩增的特点,特别是具有向损伤组织趋向迁移和肿瘤趋向迁移的能力,使其根据所锚靠局部组织的微环境定向分化为靶组织细胞。对于各类型的 MSCs 对恶性胶质瘤趋向性的差别,研究发现 BM-MSCs 和 AT-MSCs 趋向程度在统计学上没有差异^[2],同时由于 MSCs 缺乏主要组织相容性复合体 MHC-II,为异体移植避免免疫排斥反应提供了基础^[3]。

MSCs 在特异诱导物质的存在下能够定向分化为有神经功能的神经元细胞,并能够成功表达神经标志蛋白。MSCs 不仅可产生多种神经营养因子,具有免疫调节作用,还具有向多种细胞(脂肪细胞、心肌细胞、软骨细胞、神经细胞等)分化的潜能。特别是在一定的条件下能够诱导分化为神经细胞,且 MSCs 还可以在颅内脑组织的微环境中分化为神经细胞,同时在体外培养的 MSCs 经骨髓移植、颅内直接注射等注射途径顺利通过血脑屏障到脑组织,可分泌神经递质和表达神经受体等具备神经细胞所特有的功能,到达损伤的神经细胞并替代损伤的神经细胞,达到治疗疾病的目的。

由于 MSCs 能够透过血脑屏障和血瘤屏障,可以作为治疗载体传递治疗基因到颅内恶性胶质瘤,使治疗基因在恶性胶质瘤内分泌神经递质和表达神经受体,抑制肿瘤生长。Aboody 等^[4]在恶性胶质瘤、髓母细胞瘤及黑色素瘤脑转移动物模型中,首次证明 MSCs 治疗恶性胶质瘤起到显著抗肿瘤作用,原位移植肿瘤体积减小,荷瘤鼠生存时间增加,转染恶性胶质瘤的荷瘤鼠获得了完全治愈,一年存活率在 90% 以上,显示 MSCs 对肿瘤治疗发挥了其应有的特性。

2 MSCs 对恶性胶质瘤的作用

MSCs 在恶性胶质瘤微环境中具有特异的肿瘤趋向能力,体内移植 MSCs 可追踪到微小的肿瘤病灶^[5]。MSCs 能特异性的归巢到各种肿瘤组织,第 1 次证实 MSCs 的肿瘤趋向性的研究是在同基因型大鼠颅内恶性胶质瘤的 MSCs 移植,随后大量研究证实 MSCs 向肿瘤及转移肿瘤部位均具有趋向性。MSCs 向恶性胶质瘤部位迁移的特性在一些前临床体外迁移实验和肿瘤动物模型实验中得到证实^[6],提示 MSCs 作为载体基因治疗恶性胶质瘤具有很高的价值。一些研究发现未修饰的 MSCs 能够促进恶性胶质瘤的生长。例如在同基因型的鼠模型中,脂肪来源未修饰的 MSCs 可以促进肿瘤生长^[7]。另有研究显示人脂肪来源未修饰的 MSCs 经皮下注射到裸鼠恶性胶质瘤模型体内,结果显示肿瘤的大小和存活的肿瘤细胞数量上均明显增加^[8]。成人来源的 MSCs 和胚胎来源的 MSCs 具有相似的促进肿瘤增长的作用,但是成人来源的 MSCs 比胚胎来源的 MSCs 更能促进肿瘤的发生^[9]。正是因为 MSCs 的促瘤生长的特性致使没有在临床大规模的应用。然而,另一些研究发现未修饰的 MSCs 能够抑制恶性胶质瘤的生长。研究表明未修饰的 UCB-MSCs 在裸鼠体内能够分泌 Dickkopf 相关蛋白 D1 抑制恶性胶质瘤细胞的生长^[10],表明 MSCs 本身具有抑制恶性胶质瘤细胞生长的作用。提示成人来源的 MSCs 和胚胎来源的 MSCs 有明显的生理区别有待研究。

相关文献报道未修饰的 MSCs 既有促进恶性胶质瘤生长作用,又有抑制恶性胶质瘤生长作用,使临床应用受到极大的制约。对 MSCs 进行修饰进行肿瘤基因治疗主要是通过携带凋亡基因、自杀基因、免疫刺激基因、抗血管发生基因及溶瘤病毒载体等。研究经修饰的 MSCs 主要目的是为了抑制恶

性胶质瘤细胞的生长,相关报道证实修饰的 MSCs 恶性胶质瘤趋向性好及较低的免疫特性使其在恶性胶质瘤特异基因的传递的应用有较好的前景^[11]。

3 MSCs 作为载体靶向治疗

MSCs 已被用来传递白细胞介素 (interleukins, ILs)、干扰素 (interferons, IFNs)、肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 等一些细胞因子治疗恶性胶质瘤。目前在体内已经成功测试的细胞因子已扩大到 IL-18、IFN α 、TRAIL、IL-12^[12]。体内外实验表明 IL-2 表达不会对 MSCs 肿瘤趋向性产生影响, MSCs 作为传递细胞因子 IL-2 的载体,为细胞因子 IL-2 在恶性胶质瘤内安全有效的表达提供条件。转染了 IL-2 的 MSCs 可定向迁移到恶性胶质瘤内表达,能够提高淋巴细胞浸润能力和显著减小肿瘤体积,从而延长鼠的生存时间。在自发恶性胶质瘤模型中,IL-2 和 IFN γ 表达降低造成了部分抗肿瘤免疫反应的内生缺陷,为 IFN γ 作为一种可能有利的细胞因子提供了基础,转染了 IFN γ 的 MSCs 可以通过双侧颈动脉注入的方式并到达颅内安全有效地表达,为研制针剂提供可能。MSCs 归巢到移植生长的恶性胶质瘤,能够抑制细胞增殖和延长鼠的生存时间,研究发现 TRAIL 转染 MSCs 能够显著影响人恶性胶质瘤 Akt 高水平表达^[13], TRAIL 转染 MSCs 表达能持续 14 天,但是 7 天后表达开始下降,治疗效果的减弱可能是与细胞凋亡有关。与单一治疗实验模型方案相比,PI3k/mTOR 抑制剂联合 TRAIL 转染 MSCs 更明显减小肿瘤的体积,且表达持续时间更久^[14,15]。

酶-前体药物是一种在恶性胶质瘤体内通过酶的参与才能激活活性的一种药物。胞嘧啶脱氨基酶 (Cytosine deaminase, CD)/5-氟胞嘧啶 (5-FC) 是酶-前体药物疗法之一, MSCs 作为载体传递 CD 能使无毒的 5-FC 转换成有活性的化合物 5-FU, CD 转导的 AT-MSCs 的细胞 CDy-AT-MSCs 是治疗性干细胞的一种,利用人 AT-MSCs 在大鼠体内不具有免疫原性的特点来治疗大鼠恶性胶质瘤具有显著临床疗效,同时颅内注射 CDy-AT-MSCs 和用 5-FC 治疗未发现任何不良反应^[16]。单纯疱疹病毒胸苷激酶 (Herpes simplex virus-thymidine kinase, HSV-tk)/更昔洛韦 (ganciclovir, GCV) 也是酶-前体药物疗法之一,细胞毒素 GCV-TP (triphosphate, TP) 是一

个大分子物质,不容易转移到恶性胶质瘤细胞中, HSV-tk 具有使前体药物 GCV 磷酸化为单磷酸盐的能力,可以将 GCV-TP 传递到恶性胶质瘤细胞周边,发挥应有的功效。

新的研究使用 PET-CT 和 MRI 来跟踪治疗细胞从而确定靶向治疗效果。尽管这种治疗方式是否有位移潜在临床可能存在争议,但是基于细胞的基因治疗,毫无疑问发展分子成像技术来追踪在体内的细胞是有价值的。

4 存在的问题及展望

MCSs 作为载体具有较强的肿瘤趋向性,而且能够透过血脑屏障和血瘤屏障,是最有发展潜力的基因载体之一,限于以下制约尚未能大规模临床应用:①MSCs 的挑选、纯化及鉴定关系到移植的安全性和有效性的问题。②MSCs 长期体内外培养能自发发生恶性转化^[19],致 MSCs 增殖分化调控失调的问题。③MSCs 在体内外培养发生老化、畸化阻碍治疗效果问题。④MSCs 移植方法、途径、细胞状态、佐剂、适应症等问题。⑤MSCs 载体安全可靠的生产优化协议和建立监管机构等问题。

近年来,随着基因工程学、细胞遗传学、分子生物学等学科在不断飞速发展,基因治疗成为恶性肿瘤治疗研究的热点之一。MSCs 不但具备干细胞的生物学特性,而且来源丰富、提取方便、自体移植克服了伦理学争议和排斥反应等优势,作为基因治疗的载体是较理想的工具,受到医学研究者的重视。对 MSCs 迁移机制和血脑屏障、血瘤屏障通透机制的更深一步的认识,为治疗恶性胶质瘤提供了很好的条件。以 MSCs 作为载体的基因治疗已被用于成人卒中^[20]、多发性硬化症及肌萎缩性侧索硬化症^[21]等神经系统疾病,临床应用规模虽小,但有明显的疗效,没有不良事件的报道。相信随着基础研究和临床研究的进展,对 MSCs 认识的更加深入, MSCs 可以作为手术的补充成为治疗恶性胶质瘤安全有效的方案。

参 考 文 献

- [1] Altaner C. Glioblastoma and stem cells review. J Neoplasma, 2008, 55(5): 369-374.
- [2] Pendleton C, Li Q, Chesler DA, et al. Mesenchymal stem cells derived from adipose tissue vs bone marrow: in vitro comparison of their tropism towards gliomas. PLoS One, 2013, 8(3): e58198.
- [3] Griffin MD, Ritter T, Mahon BP. Immunological aspects of

- allogeneic mesenchymal stem cell therapies. *Hum. Gene Ther*, 2010, 21(12): 1641-1655.
- [4] Aboody KS, Najbauer J, Danks M K. Stem and progenitor cell-mediated tumor selective gene therapy cell-mediated anti-cancer therapy. *J Gene Therapy*, 2008, 15(10): 739-752.
- [5] Hung SC, Deng WP, Yang WK, et al. Mesenchymal stem cell targeting of microscopic tumors and tumor stroma development monitored by noninvasive in vivo positron emission tomography imaging. *J Clin Cancer Res*, 2005, 11(21): 7749-7756.
- [6] Sasportas LS, Kasmieh R, Wakimoto H, et al. Assessment of therapeutic efficacy and fate of engineered human mesenchymal stem cells for cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 4822-4827.
- [7] Muehlberg F, Song YH, Krohn A, et al. Tissue resident stem cells promote breast cancer growth and metastasis. *Carcinogenesis*, 2009, 30: 589-597.
- [8] Yu JM, Jun ES, Bae YC, et al. Mesenchymal stem cells derived from human adipose tissues favor tumor cell growth in vivo. *Stem Cells Dev*, 2008, 17: 463-473.
- [9] Zhu W, Xu W, Jiang R, et al. Mesenchymal stem cells derived from bone marrow favor tumor cell growth in vivo. *Exp Mol Pathol*, 2006, 80: 267-274.
- [10] Jiao HL, Guan FX, Yang B, et al. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells inhibit C6 glioma via downregulation of cyclin D1. *J Neurology India*, 2011, 59(2): 241-247.
- [11] Cho JA, Park H, Kim HK, et al. Hyperthermia-treated mesenchymal stem cells exert antitumor effects on human carcinoma cell line. *Cancer*, 2009, 115: 311-323.
- [12] Ryu CH, Park SH, Park SA, et al. Gene therapy of intracranial glioma using interleukin 12-secreting human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *J Hum Gene Ther*, 2011, 22(6): 733-743.
- [13] Kim SM, Lim JY, Park SI, et al. Gene therapy using trail-secreting human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells against intracranial glioma. *J Cancer Res*, 2008, 68(23): 9614-9623.
- [14] Bagci-Onder T, Wakimoto H, Anderegg M, et al. A dual PI3K/ mTOR inhibitor, pi-103, cooperates with stem cell-delivered trail in experimental glioma models. *J Cancer Res*, 2011, 71(1): 154-163.
- [15] Kim SM, Woo JS, Jeong CH, et al. Effective combination Therapy for malignant glioma with trail-secreting mesenchymal Stem cells and lipoxygenase inhibitor mk886. *J Cancer Res*, 2012, 72(18): 4807-4817.
- [16] Altanerova V, Cihova M, Babic M, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells expressing yeast cytosinedeaminase: uracilphosphoribosyltransferase inhibit intracerebral rat glioblastoma. *Int J Cancer*, 2012, 130(10): 2455-2463.
- [17] Uchibori R, Okada T, Ito T, et al. Retroviral vector-producing mesenchymal stem cells for targeted suicide cancer gene therapy. *J Gene Med*, 2009, 11(5): 373-381.
- [18] Choi SA, Lee JL, Wang KC, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: characteristics and therapeutic potential as cellular vehicles for prodrug gene therapy against brainstem gliomas. *Eur. J Cancer*, 2012, 48(1): 129-137.
- [19] Rosland GV, Svendsen A, Torsvik A, et al. Long-term cultures of bone marrow-derived human mesenchymal stem cells frequently undergo spontaneous malignant transformation. *J Cancer Res*, 2009, 69(13): 5331-5339.
- [20] Honmou O, Houkin K, Matsunaga T, et al. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke. *J Brain*, 2011, 134(6): 1790-1807.
- [21] Freedman MS, Bar-Or A, Atkins HL, et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cell transplantation as a treatment for multiple sclerosis: consensus report of the International MSCT Study Group. *J Multiple Sclerosis*, 2010, 16(4): 503-510.