

## 间充质干细胞在胶质瘤治疗中的研究进展

于燕姣, 王静, 陈忠平

中山大学肿瘤防治中心(华南肿瘤学国家重点实验室/肿瘤医学协同创新中心) 神经外科, 广东 广州 510060

**摘要:** 脑胶质瘤是最常见的原发性中枢神经系统肿瘤, 其中胶质母细胞瘤侵袭性强, 存在手术效果差、化疗耐药等问题, 因此亟待发现新的、有效的治疗方法。间充质干细胞(MSCs)属于一类早期未分化干细胞, 具有很强的增殖能力、巨大的分化潜能及独特的“归巢”能力。MSCs可从人体多种组织中分离获得, 组织来源不同的MSCs可能具有不同的生理特性, 发挥促瘤或抑瘤的作用。根据MSCs的“归巢”特性, 将其作为基因治疗的载体, 实现肿瘤靶向精准治疗, 以期改善肿瘤耐药及复发等问题。该文将介绍近年来MSCs在胶质瘤治疗中的研究进展以及所面临的挑战。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(2): 193-196]

**关键词:** 间充质干细胞; 胶质瘤; 溶瘤病毒; 外泌体; 免疫治疗

中图分类号: R739.4

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.02.020

### Progress in glioma treatment with mesenchymal stem cells

YU Yan-Jiao, WANG Jing, CHEN Zhong-Ping

Department of Neurosurgery/Neuro-oncology, Sun Yat-sen University Cancer Center (State Key Laboratory of Oncology in South China/Collaborative Innovation Center for Cancer Medicine), Guangzhou, Guangdong 510060, China

Corresponding author: CHEN Zhong-Ping, Email: chenzhp@sysucc.org.cn

**Abstract:** Glioma is the most common primary central nervous system tumor, and glioblastoma is characterized by high aggression, poor surgical outcome, and chemotherapy resistance. There is a pressing need to discover new and effective treatments. Mesenchymal stem cells (MSCs) are undifferentiated stem cells with high proliferation ability, great differentiation potential, and unique “homing” ability. MSCs can be isolated from a variety of human tissues, with different physiological characteristics for tumor promotion or inhibition. The “homing” of MSCs can be used for gene therapy to achieve precise targeted tumor therapy and to improve tumor drug resistance and recurrence. In this article, we introduce the research progress and challenges of MSCs in the treatment of glioma in recent years.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(2): 193-196]

**Keywords:** mesenchymal stem cells; Glioma; oncolytic virus; exosomes; immunotherapy

胶质瘤是中枢神经系统发病率最高、预后不良的原发性脑肿瘤, 具有发病隐匿的特点, 以及显著的肿瘤异质性及易感性。胶质母细胞瘤(Glioblastoma, GBM)是胶质瘤中恶性程度最高的一种, 即使采用手术加同步放化疗的标准治疗方案, 患者的中位生存期仅为14.4个月左右<sup>[1]</sup>。由于肿瘤呈浸润性生长, 0~6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(MGMT)启动子甲基化差异, 机体血脑屏障等特点, GBM常常出现复发及耐药问题<sup>[2]</sup>。随着近些年对胶质瘤治疗的深入研究, 间充质干细胞(mesenchymal

stem cells, MSCs)在胶质瘤治疗中的作用引起国内外学者的关注<sup>[3-4]</sup>。

MSCs是干细胞中的一员, 属于一类早期未分化细胞, 其来源包括骨髓、外周血、脂肪组织、脐带等, 具有增殖能力强、分化潜能大、免疫原性低及采集方便等优点, 其趋化性更使MSCs能够“定向导航”至肿瘤部位, 进入肿瘤微环境, 成为肿瘤治疗的一个理想工具<sup>[5]</sup>。由于血脑屏障的存在, 很多药物无法直达颅内肿瘤病灶, 但是具有跨血脑屏障特性的MSCs可以作为载体有效地将所需药

收稿日期: 2020-10-27; 修回日期: 2021-03-29

通信作者: 陈忠平, Email: chenzhp@sysucc.org.cn

物送到靶部位<sup>[6-7]</sup>。本文对近年来 MSCs 治疗胶质瘤的研究进展进行了归纳总结,着重阐述了 MSCs 在溶瘤病毒载体、外泌体及免疫治疗三大方面,以期对胶质母细胞瘤的治疗研究提供帮助。

## 1 MSCs 特性

目前为止,专家学者在多种组织中均发现 MSCs 的存在,并且认为其和疾病的发生发展存在着一定的关系。MSCs 是成人体内的一种多潜能干细胞,因其特性,目前应用于多种人类疾病的治疗。国际细胞治疗协会 (ISCT) 于 2006 年首次提出了 MSCs 的鉴定标准,主要包括在正常培养条件下, MSCs 可呈漩涡状贴壁生长;可阳性表达 CD105、CD90、CD73,而不表达 CD14、CD34、CD45;在体外可分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞等<sup>[8]</sup>。不同组织来源的 MSCs 具有高度异质性,其表面标记物组成、形状和增殖分化能力存在差异,具有不同标记物的 MSCs 亚群在肿瘤的发生发展中可能发挥促进或抑制的作用。

肿瘤相关的 MSCs (tumor-associated mesenchymal stem cells, TA-MSCs) 根据其来源可分为两大类,一类直接存在于肿瘤微环境中,而另一类则存在于机体内的多种正常组织中,肿瘤细胞通过旁分泌等途径招募 MSCs 进入肿瘤微环境,参与肿瘤的生长、浸润、迁移<sup>[5,9]</sup>。

MSCs 的“归巢”特性是其发挥治疗作用的基础,内源性和外源性 MSCs 的“归巢”作用机制可能有 2 种:非系统性和系统性。非系统性“归巢”指损伤区域组织细胞及免疫细胞可释放炎症诱导因子,形成梯度诱导作用,促进周围基质的内源性或外源性 MSCs 逐步向损伤区域迁移;系统性“归巢”指组织内源性或通过血液注射的外源性 MSCs,必须先退出血液循环,通过一系列过程,如捕获、活化、黏附、渗出、迁移,最终到达损伤区域<sup>[10]</sup>。然而,关于 MSCs 向脑组织定向迁移的具体机制,如跨越血脑屏障等尚未有研究阐明。经动静脉注射的 MSCs 存在“首过效应”,即由于大小和体积因素,大部分 MSCs 被困于肺部的毛细血管床,导致细胞定向迁移受限,利用率不高。但内源性骨髓 MSCs 体积较体外扩增获得的 MSCs 体积小,可能是其能够穿越血脑屏障的重要原因。

目前一些影像学方法被用于研究 MSCs 的脑组织定向迁移过程,其中最主要和最常用的是生物荧光光学成像 (BLI)、磁共振成像 (MRI) 和核成像技术。体内动物实验表明,经颈静脉注射的荧光标记骨髓 MSCs 可定向迁移至颅内胶质瘤模型中,颅内对侧大脑半球注射结果同样证实其定向迁移能力<sup>[11]</sup>。

应用于基因工程的 MSCs 主要来源于人体正常的骨髓、脐带及脂肪组织,也可从子宫内膜、滑膜、肌肉、胎盘等组织中分离。不同组织来源的 MSCs 可能具有不同的分子标记物、体外增殖特性及临床转化潜能等。提高体外培养成功率、扩增效率,维持细胞归巢分子及基因稳定

性是治疗应用的基础。

## 2 MSCs 研究现状

### 2.1 MSCs 与溶瘤病毒

溶瘤病毒 (oncolytic virus) 治疗恶性肿瘤可以追溯到一个多世纪前,其作用原理是将致病力较弱的病毒改造成特殊的溶瘤病毒,利用靶细胞中抑癌基因的失活或缺陷从而选择性地感染肿瘤细胞,通过在肿瘤细胞内大量复制达到摧毁肿瘤细胞的目的,具有更高的杀伤效率和更低的不良反应<sup>[12]</sup>。

目前单纯疱疹病毒胸苷激酶 (herpes simplex virus thymidine kinase, HSV-TK) 基因转导的 MSCs 治疗 GBM 已取得显著进展,研究提示在使用更昔洛韦 (Ganciclovir, GCV) 联合表达 HSV-TK 的脐带 MSCs (MSC-TKs) 对 GBM 肿瘤细胞具有较强的治疗作用,有望成为 GBM 术后治疗的一种有效的辅助方法<sup>[13]</sup>。溶瘤疗法与机体的免疫系统息息相关,单独进行溶瘤疗法时,固有免疫能够更加迅速、有力地清除病毒,在此基础上,将溶瘤疗法与 PD-1 抑制剂相结合,可提高治疗成功的概率<sup>[14]</sup>。

近年来,相关的临床试验逐步证实溶瘤病毒在高级别胶质瘤治疗方面的有效性和安全性。2003 年,Lang 进行 I 期剂量爬坡临床试验证实:瘤内注射 Ad-p53 可实现 p53 基因的外源性转移和功能 p53 蛋白的表达,但转化细胞仅在注射部位附近发现<sup>[15]</sup>;2018 年,该团队报道了关于以 MSCs 为基础的 DNX-2401 (Delta-24-RGD) 溶瘤腺病毒治疗复发性胶质瘤的 I 期试验结果,25 例接受颅内注射治疗的患者中 5 例生存期 > 3 年,3 例出现注射后肿瘤体积减小 95%,最终结果表明以 MSCs 为基础的 DNX-2401 治疗方案在复发性高级别胶质瘤中可延长患者生存期<sup>[16]</sup>。2019 年,该团队进一步证实选择性动脉内输注 BM-hMSC-Delta-24-RGD 治疗胶质瘤具有可行性<sup>[17]</sup>。

目前体外实验证实 MSCs 结合溶瘤病毒具有较好的治疗效果,但临床试验结果仍不理想,因此溶瘤疗法尚未能得到广泛临床应用。如何选择病毒载体,合理有效的控制病毒的毒性,防止系统性病毒播散仍然是值得关注的重点。

### 2.2 MSCs 与外泌体

外泌体 (exosomes) 是一种由几乎所有活细胞均可分泌直径 30~150 nm 的圆形或杯状囊泡,是细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 的一部分,广泛存在于人体的各种体液、分泌物及排泄物中<sup>[18]</sup>。在一定程度上,外泌体具有来源细胞的代表性,即携带来源细胞 (包括肿瘤细胞) 内的特定蛋白质、RNA、DNA、转录因子等<sup>[19]</sup>,通过旁分泌途径参与细胞之间信息交流,在肿瘤的发生发展、耐药等方面发挥着重要作用<sup>[20]</sup>。由于外泌体具有独特的粒径大小,可以自由过血脑屏障,外泌体在胶质瘤诊断及治疗中的应用逐渐成为研究热点<sup>[21]</sup>。

MSCs分泌含有 miR-133b、miR-199a、miR-375 的外泌体作用于 GBM 细胞,可分别通过抑制 EZH2 来干扰 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路、下调 AGAP2、抑制 SLC31A1,从而抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移<sup>[22-24]</sup>。另外,外泌体还可通过介导环状 RNA 核因子 IX (circRNA nuclear factor IX, CircNFIX) 的转移,进一步导致替莫唑胺耐药,提示了潜在的预后生物标志物和治疗靶点<sup>[25]</sup>。

目前研究表明 MSCs 来源的外泌体可能发挥促瘤作用<sup>[3,26]</sup>。在肿瘤微环境中,肿瘤细胞分泌的外泌体可诱导 MSCs 从正常的营养性向致瘤性转变。改造后的 MSCs 分泌包含 miRNAs 等成分的外泌体作用于肿瘤细胞,发挥促瘤作用,同时还可以作用于肿瘤微环境中的成纤维细胞等<sup>[27]</sup>,诱导其向促瘤功能转变<sup>[26]</sup>。U251 细胞来源的外泌体通过活化 MSCs 糖酵解引起其向肿瘤表型转化,发挥促瘤作用<sup>[28]</sup>。在肿瘤微环境中,外泌体作为 MSCs 和肿瘤细胞间信息交流的载体,发挥着重要作用,两种细胞间的双向沟通途径可能作为肿瘤精准治疗的新靶点。

### 2.3 MSCs 与免疫治疗

胶质瘤微环境中仅存在少量免疫细胞,属于典型的“冷肿瘤”,单纯免疫治疗效果不佳。MSCs 具有“归巢”特性,可作为理想的载体将其与免疫治疗药物相结合,通过改变免疫微环境抑制状态达到治疗胶质瘤的目的<sup>[29]</sup>。

MSCs 可作为载体传递编码促炎细胞因子的基因,以刺激针对 GBM 的免疫反应<sup>[30]</sup>。在小鼠原位胶质瘤模型中,颅内注射过表达白介素-7 (IL-7) 和白介素-12 (IL-12) 的 MSCs,可抑制肿瘤生长,诱导肿瘤进入免疫抑制状态<sup>[31]</sup>。MSCs 在  $\gamma$  干扰素 (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 的刺激下能够诱导主要组织相容性复合体 (MHC) 表达和发挥抗原递呈作用<sup>[32]</sup>,在接受 MSCs 和 IFN- $\gamma$  联合治疗的大鼠中, MSCs 可上调 MHC I、II 类的表达和分泌少量免疫抑制分子前列腺素 E2 (PGE2)、白细胞介素-10 (IL-10),导致 CD8<sup>+</sup> 和 TCR<sup>+</sup> 细胞的瘤内浸润增加<sup>[33]</sup>。在大鼠胶质瘤模型中,将重组慢病毒载体编码  $\beta$  干扰素 (IFN- $\beta$ ) 和铁蛋白重链 (FTH) 报告基因的 MSCs (IFN- $\beta$ -FTH-MSCs) 注射于瘤周, IFN- $\beta$ -FTH-MSCs 可持续分泌 IFN,引起瘤内 Batf3<sup>+</sup> 树突状细胞和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞浸润,抑制肿瘤生长<sup>[34]</sup>。这些研究成果为胶质瘤实现“热肿瘤”转换提供了可能。

目前仍有部分报道认为 TA-MSCs 可能发挥免疫抑制作用<sup>[35-36]</sup>。将胶质瘤来源的 MSCs (GB-MSCs) 与外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 体外共培养, GB-MSCs 可能通过分泌抑制性细胞因子导致肿瘤微环境中 Th17 淋巴细胞比例降低而 Tregs 细胞比例升高,从而引起免疫抑制<sup>[36]</sup>。肿瘤微环境组成复杂,目前的研究结果表明 MSCs 可通过直接或间接方式作用于免疫细胞,在肿瘤的免疫浸润及复发转移方面可能发挥重要作用,但具体机制仍需进一步研究。

### 3 总结与展望

目前, MSCs 的再生、免疫调节和肿瘤归巢特性已被用于组织损伤修复、癌症治疗、免疫疾病和神经退行性疾病的治疗。MSC 在肿瘤治疗中的应用,主要根据其肿瘤趋向性和非免疫原性,并且在肿瘤微环境中可通过旁分泌和自分泌的方式发挥调节肿瘤细胞增殖和迁移等能力,改变肿瘤微环境免疫状态。

MSCs 作为一类混合细胞群存在于肿瘤微环境中,包含形态相似但分子标志物和功能存在不同差异的细胞亚群,对细胞亚群的分类标准及功能仍需进一步研究。MSCs 在临床应用方面仍然处于起步阶段,如何利用好 MSCs 的“归巢”特性,发挥运输载体功能,实现肿瘤的靶向治疗,仍然面临着更大的挑战。

### 参考文献

- [1] Jiang T, Nam DH, Ram Z, et al. Clinical practice guidelines for the management of adult diffuse gliomas[J]. Cancer Lett, 2021, 499: 60-72.
- [2] Anjum K, Shagufta BI, Abbas SQ, et al. Current status and future therapeutic perspectives of glioblastoma multiforme (GBM) therapy: a review[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 92: 681-689.
- [3] Figueroa J, Phillips LM, Shahar T, et al. Exosomes from glioma-associated mesenchymal stem cells increase the tumorigenicity of glioma stem-like cells via transfer of miR-1587[J]. Cancer Res, 2017, 77(21): 5808-5819.
- [4] Sun C, Dai XL, Zhao DL, et al. Mesenchymal stem cells promote glioma neovascularization in vivo by fusing with cancer stem cells[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 1240.
- [5] Shi YF, Du LM, Lin LY, et al. Tumour-associated mesenchymal stem/stromal cells: emerging therapeutic targets[J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(1): 35-52.
- [6] Duan XP, Guan H, Cao Y, et al. Murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles for interleukin-12 gene delivery into Ewing sarcoma tumors[J]. Cancer, 2009, 115(1): 13-22.
- [7] Gao P, Ding Q, Wu Z, et al. Therapeutic potential of human mesenchymal stem cells producing IL-12 in a mouse xenograft model of renal cell carcinoma[J]. Cancer Lett, 2010, 290(2): 157-166.
- [8] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement[J]. Cytotherapy, 2006, 8(4): 315-317.
- [9] Behnan J, Finocchiaro G, Hanna G. The landscape of the mesenchymal signature in brain tumours[J]. Brain, 2019, 142(4): 847-866.
- [10] Ullah M, Liu DD, Thakor AS. Mesenchymal stromal cell homing: mechanisms and strategies for improvement[J]. iScience, 2019, 15: 421-438.
- [11] Nakamizo A, Marini F, Amano T, et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas[J]. Cancer Res, 2005, 65(8): 3307-3318.



- [12] Cervera-Carrascon V, Havunen R, Hemminki A. Oncolytic adenoviruses: a game changer approach in the battle between cancer and the immune system[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2019, 19(5): 443-455.
- [13] Wei D, Hou JL, Zheng K, et al. Suicide gene therapy against malignant gliomas by the local delivery of genetically engineered umbilical cord mesenchymal stem cells as cellular vehicles[J]. *Curr Gene Ther*, 2019, 19(5): 330-341.
- [14] Storey KM, Lawler SE, Jackson TL. Modeling oncolytic viral therapy, immune checkpoint inhibition, and the complex dynamics of innate and adaptive immunity in glioblastoma treatment[J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 151.
- [15] Lang FF, Bruner JM, Fuller GN, et al. Phase I trial of adenovirus-mediated p53 gene therapy for recurrent glioma: biological and clinical results[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(13): 2508-2518.
- [16] Lang FF, Conrad C, Gomez-Manzano C, et al. Phase I study of DNX-2401 (delta-24-RGD) oncolytic adenovirus: replication and immunotherapeutic effects in recurrent malignant glioma[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(14): 1419-1427.
- [17] Srinivasan VM, Gumin J, Camstra KM, et al. Microcatheter delivery of neurotherapeutics: compatibility with mesenchymal stem cells[J]. *J Neurosurg*, 2020, 133(4): 1182-1190.
- [18] Hoshino A, Kim HS, Bojmar L, et al. Extracellular vesicle and particle biomarkers define multiple human cancers[J]. *Cell*, 2020, 182(4): 1044-1061.
- [19] Jeppesen DK, Fenix AM, Franklin JL, et al. Reassessment of exosome composition[J]. *Cell*, 2019, 177(2): 428-445.
- [20] Al-Nedawi K, Meehan B, Rak J. Microvesicles: messengers and mediators of tumor progression[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(13): 2014-2018.
- [21] Cheng J, Meng JL, Zhu L, et al. Exosomal noncoding RNAs in Glioma: biological functions and potential clinical applications [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 66.
- [22] Xu HY, Zhao GF, Zhang Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-133b suppresses glioma progression via Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway by targeting EZH2[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 381.
- [23] Yu L, Gui S, Liu YW, et al. Exosomes derived from microRNA-199a-overexpressing mesenchymal stem cells inhibit glioma progression by down-regulating AGAP2[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(15): 5300-5318.
- [24] Deng SZ, Lai MF, Li YP, et al. Human marrow stromal cells secrete microRNA-375-containing exosomes to regulate glioma progression[J]. *Cancer Gene Ther*, 2020, 27(3-4): 203-215.
- [25] Ding CY, Yi XH, Wu XY, et al. Exosome-mediated transfer of circRNA CircNFIX enhances temozolomide resistance in glioma [J]. *Cancer Lett*, 2020, 479: 1-12.
- [26] Whiteside TL. Exosome and mesenchymal stem cell cross-talk in the tumor microenvironment[J]. *Semin Immunol*, 2018, 35: 69-79.
- [27] McBride JD, Rodriguez-Menocal L, Guzman W, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived CD63<sup>+</sup> exosomes transport wnt3a exteriorly and enhance dermal fibroblast proliferation, migration, and angiogenesis in vitro[J]. *Stem Cells Dev*, 2017, 26(19): 1384-1398.
- [28] Ma ZJ, Cui X, Lu L, et al. Exosomes from glioma cells induce a tumor-like phenotype in mesenchymal stem cells by activating glycolysis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 60.
- [29] Zhang Q, Xiang W, Yi DY, et al. Current status and potential challenges of mesenchymal stem cell-based therapy for malignant gliomas[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 228.
- [30] Nakamura K, Ito Y, Kawano Y, et al. Antitumor effect of genetically engineered mesenchymal stem cells in a rat glioma model [J]. *Gene Ther*, 2004, 11(14): 1155-1164.
- [31] Mohme M, Maire CL, Geumann U, et al. Local intracerebral immunomodulation using interleukin-expressing mesenchymal stem cells in glioblastoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(11): 2626-2639.
- [32] Romieu-Mourez R, François M, Boivin MN, et al. Regulation of MHC class II expression and antigen processing in murine and human mesenchymal stromal cells by IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , and cell density[J]. *J Immunol*, 2007, 179(3): 1549-1558.
- [33] Ströjby S, Eberstål S, Svensson A, et al. Intratumorally implanted mesenchymal stromal cells potentiate peripheral immunotherapy against malignant rat gliomas[J]. *J Neuroimmunol*, 2014, 274(1-2): 240-243.
- [34] Mao JJ, Cao MH, Zhang F, et al. Peritumoral administration of IFN $\beta$  upregulated mesenchymal stem cells inhibits tumor growth in an orthotopic, immunocompetent rat glioma model[J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000164.
- [35] Svensson A, Ramos-Moreno T, Eberstål S, et al. Identification of two distinct mesenchymal stromal cell populations in human malignant glioma[J]. *J Neurooncol*, 2017, 131(2): 245-254.
- [36] Tumangelova-Yuzeir K, Naydenov E, Ivanova-Todorova E, et al. Mesenchymal stem cells derived and cultured from glioblastoma multiforme increase tregs, downregulate Th17, and induce the tolerogenic phenotype of monocyte-derived cells[J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 6904638.

责任编辑:王荣兵