

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.11.043

通过模拟胚胎微环境逆转肿瘤的研究进展 *

申骏龙^{1,2} 雷光焰¹ 吕卫东^{1△}

(1 陕西省肿瘤医院胸外科 陕西 西安 710061; 2 陕西中医学院附属医院 陕西 咸阳 712046)

摘要: 肿瘤的发生和发展源于一小部分具有自我更新能力的肿瘤干细胞。胚胎干细胞也具有自我更新和多向分化的特性。胚胎干细胞特异的基质微环境能够提供干细胞正常生长的调控分子,在细胞不断更新的情况下,使增殖和分化达到平衡。受胚胎干细胞调节的基质或胚胎微环境作用于肿瘤细胞,可以使肿瘤细胞获得更多的分化表型,显著降低其恶性程度,抑制肿瘤细胞的侵袭行为。进一步的分子机制研究发现,在肿瘤细胞中高表达的 Nodal 蛋白会抑制肿瘤细胞分化,而胚胎干细胞分泌的糖基化 Lefty 蛋白可以负反馈调节 Nodal 蛋白的作用,从而降低肿瘤细胞的恶性程度。利用组织工程来模拟胚胎干细胞微环境,保留 Lefty 蛋白,从而逆转肿瘤的方法具有广阔的前景。

关键词: 肿瘤; 胚胎干细胞; 肿瘤干细胞; 微环境; 组织工程

中图分类号: Q132.7; R73-3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)11-2154-03

Progress in Reversal of Tumor by Mimicking Embryonic Microenvironment*

SHEN Jun-long^{1,2}, LEI Guang-yan¹, LV Wei-dong^{1△}

(1 Department of Thoracic Surgery, Tumor Hospital of Shaanxi Province, Xi'an, Shaanxi, 710061, China; 2 Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712046, China)

ABSTRACT: The neoplasm is derived from a little part of cancer stem cells with unregulated self-renewal capability. Embryonic stem cells also have the characteristics of self-renewal and multi-directional differentiation. The specific stromal microenvironment of embryonic stem cells can provide stem cells with regulation molecules of normal growth to keep the balance of proliferation and differentiation. The extracellular matrix or embryonic microenvironment regulated by embryonic stem cells can provide tumor cells with more differentiated phenotype. The malignant and invasive behaviors of tumor cells were inhibited. The molecular mechanisms of further study present that Nodal protein, which is high-level expressed in tumor cells, can inhibit tumor cell differentiation. The glycosylation Lefty protein secreted by embryonic stem cells can adjust the action of Nodal protein with negative feedback and reduce the malignant degree of tumor cells. It is of a good application prospect to use tissue engineering method to mimic the embryonic stem cell microenvironment to reverse the progress of the tumors.

Key words: Tumor; Embryonic stem cell; Cancer stem cell; Microenvironment; Tissue engineering

Chinese Library Classification(CLC): Q132.7; R73-3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)11-2154-03

胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 和肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 都具有自我更新, 无限增殖和多向分化能力^[1,2]。但 ESCs 在胚胎微环境中分化为正常组织, CSCs 在肿瘤微环境中演进出侵袭性, 进而发生远处转移。胚胎干细胞或胚胎基质微环境作用于肿瘤细胞, 可以显著降低其恶性程度, 从而抑制肿瘤细胞的侵袭行为^[3]。用组织工程的方法将胚胎组织 (如拟胚体) 去细胞处理后, 保留的基质微环境成分在逆转肿瘤研究方面有广阔的前景。本文对模拟胚胎微环境逆转肿瘤进行综述, 包括胚胎干细胞和肿瘤细胞的比较, 胚胎组织的对肿瘤的逆转效应及模拟胚胎微环境逆转肿瘤。

1 胚胎干细胞和肿瘤干细胞的比较

胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 从胚泡期胚胎的

内细胞团中分离出来, 具有自我更新和多向分化的特性, 是能够分化为所有类型体细胞和生殖细胞的多能干细胞(pluripotent stem cells)^[1,4]。ESCs 的分化受局部细胞外微环境的物理和化学信号的影响。当暴露在适当的环境中, ESCs 可被诱导分化成祖细胞, 祖细胞再定向分化为各种成熟细胞, 如巨噬细胞、单核细胞、神经细胞、心肌细胞和胰岛β细胞。相似地, 肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 是肿瘤组织中存在的一类干细胞, 同样具有自我更新和无限增殖的能力, 其能发生上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)。EMT 是上皮来源的恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的重要生物学过程^[5]。EMT 的主要特征有细胞黏附分子 (如 E- 钙黏蛋白) 表达的减少、细胞角蛋白骨架转化为波形蛋白 (vimentin) 为主的细胞骨架及形态上具有间充质细胞的特征等。通过 EMT, 上皮细胞失去了细胞

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (31100686)

作者简介: 申骏龙 (1988-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 肿瘤的综合治疗, 电话: +86-29-85276440, E-mail: tb_ba1haowei@126.com

△ 通讯作者: 吕卫东 (1976-), 男, 博士, 副主任医师, 主要研究方向: 生物材料和肿瘤转移, E-mail: wdlu76@aliyun.com

(收稿日期: 2014-10-16 接受日期: 2014-11-10)

极性,失去与基底膜的连接等上皮表型,获得了较高的转移与侵袭、抗凋亡和降解细胞外基质的能力等间质表型。大量研究显示,血液系统及实体瘤中均存在 CSCs^[6]。Kasai 等认为肿瘤的异质性是由于细胞分级造成的,而 CSCs 处于等级的顶点,该研究团队通过实验发现 ESCs 在正常微环境下诱导分化为成熟细胞,而在肿瘤微环境下转变为 CSCs,进而形成肿瘤细胞^[7]。

2 胚胎组织的肿瘤逆转效应

ESCs 或胚胎组织与癌细胞共培养,能够诱导癌细胞分化成正常上皮细胞或恶性程度降低^[8]。孟龙等通过 Transwell 小室体外共培养小鼠胚胎干细胞和 lewis 肺癌细胞,发现胚胎干细胞能够抑制 Lewis 肺癌细胞的增殖及侵袭力^[9]。Kulesa 等利用胚胎模型将恶性黑色素瘤细胞重新转化成了正常的黑色素细胞,其机理为胚胎组织可能通过恢复正常细胞微环境逆转癌变组织^[10]。Bischof 等用胚胎间质和乳腺癌细胞共培养,乳腺癌细胞向静态分化组织转化^[11]。

3 模拟胚胎微环境逆转肿瘤

3.1 肿瘤微环境的组成及作用

肿瘤微环境主要是由多种不同的基质细胞和细胞外基质成分(extracellular matrix, ECM)组成。肿瘤微环境不仅仅起支架作用,还能够分泌出大量的生长因子和细胞因子。基质细胞包括炎性/免疫细胞、血管内皮细胞、脂肪细胞和间充质来源细胞(如成纤维细胞)等。肿瘤细胞存在于一个动态的多样性的蛋白质 ECM 中,ECM 成分包括胶原蛋白、层粘连蛋白和蛋白多糖复合物等^[12]。ECM 能够给基质中的细胞和周围的组织提供支撑,并且能够储备细胞因子和生长因子。Hannu 等认为 ECM 除了构成必不可少的结构成分外,在调控关键细胞事件如粘附、迁移、增殖、分化和存活中扮演重要角色。任何遗传或获得的结构缺陷和/或 ECM 代谢紊乱都能引起细胞和组织的改变,最终导致疾病的发生和发展^[13]。如肝细胞癌随着生物力学环境的改变进展^[14]。当 ECM 硬度不断增加时,可作为肝细胞癌演进的一个准确的预测信号。Jorg 等在体外采用机械性能可调的基质涂层聚丙烯酰胺凝胶系统,根据病理生理学的组织硬度范围模拟基质硬度(其硬度值对应于正常肝脏和纤维化肝脏),结果发现基质硬度增加促进细胞增殖,并且导致化疗抵抗,而组织硬度降低可诱导肝癌细胞休眠^[14]。

3.2 胚胎微环境的组成及作用

胚胎干细胞自我更新和多向分化的能力依赖于其固有的遗传程序和所处的微环境^[15]。胚胎干细胞微环境也被称作干细胞壁龛(stem cell niche),这一概念最早由 Schofield 提出,用来描述支持哺乳动物造血系统干细胞的微环境^[16]。目前认为,干细胞壁龛是一个兼具解剖和功能的概念,其由不同的细胞亚型、细胞外基质,旁分泌因子和非蛋白质代谢产物组成^[17]。干细胞壁龛是干细胞发挥正常功能的场所,维持着干细胞自我更新和多向分化的动态平衡。

3.3 模拟胚胎微环境

微环境异常被认为是肿瘤发生和进展的最大诱因。微环境异常引发细胞间及细胞与 ECM 间信号传导异常,进而导致肿瘤细胞异常增殖等恶性表型的出现,随后肿瘤细胞内信号传导

通路紊乱、遗传物质发生改变^[18]。ESCs 与 CSCs 都具有多向分化潜能,然而 ESCs 的增殖与分化受到更严格的调控。人们设想,是否可以通过模拟胚胎发育的微环境来调控肿瘤细胞的增殖,甚至对肿瘤细胞的恶性表型进行调节逆转以使其实现定向分化。Mintz 等将恶性畸胎瘤细胞培养在小鼠胚泡的微环境中,结果恶性畸胎瘤细胞的成瘤能力显著降低,最后可转化为正常的组织^[19]。Hou 等将肿瘤细胞培养在胚胎微环境中,发现微环境对肿瘤细胞具有再编程的能力^[20]。Janet 等通过在三维(three dimensional, 3D)支架上培养人类胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)模拟胚层形成过程,支架的硬度与特定胚层中的硬度相一致。整体结果表明,3D 支架可以提供 hESCs 分化需要的机械刺激,这些刺激在决定 hESCs 的命运中起重要作用^[21]。通过体外重建微环境来调控侵袭性肿瘤细胞的增殖和迁移或许可以提供抑制癌细胞转移能力的可能。侵袭性肿瘤细胞和 ESCs 联系在一起是因为它们拥有某些相似的特征和基因标志。胚胎微环境有重新编码肿瘤细胞从而降低其侵袭性的潜能,并且能帮助阐明肿瘤发生和转移。Nurazhani 等用在藻酸盐凝胶中培养的小鼠 ESCs 探究了重建胚胎微环境的可行性,并且研究了胚胎干细胞和高侵袭性乳腺癌细胞在 2D 和 3D 培养条件下的相互作用,结果发现小鼠胚胎干细胞抑制乳腺癌细胞的生长和肿瘤球状体的形成;小鼠 ESCs 微环境在 3D 藻酸盐凝胶微球中进一步建构和优化,并和乳腺癌细胞共培养,迁移分析显示乳腺癌细胞移动的平均速度和运动轨迹显著减小^[22]。这表明生物工程小鼠 ESCs 微环境抑制乳腺癌细胞的增殖和迁移。Silva 等人开发体外 3D 模型去研究乳癌组织和微环境在决定表型中的作用,发现由 I 型胶原蛋白、基底膜和正常的乳腺成纤维细胞组成的基质提供了一个最小容许微环境(minimal permissive microenvironment),能诱导和逆转具有肿瘤表型的细胞^[23]。该人体乳腺 3D 组织形态模型有望变成用于研究组织相互作用、化疗筛选和药物靶向验证的工具。

3.4 分子机制

ESCs 微环境能够重新编码侵袭性肿瘤细胞,使其进入低侵袭性状态。表型改变涉及到的机制主要与 Nodal 信号通路有关,而该信号转导路径在肿瘤细胞的可塑性中起核心作用^[24]。肿瘤细胞与周围环境动态地互惠互利进而促进可塑性和致瘤性。然而肿瘤相关的微环境缺乏适当的调控机制去维持正常的细胞表现型。Lynne 等发现转移性肿瘤细胞不表达针对 Nodal 的抑制,相反,允许它们以一种不受调节的方式过度表达胚胎表型^[25]。人类 ESCs 微环境能够分泌的糖基化 Lefty 蛋白,可以负反馈调节 Nodal 蛋白的作用。将肿瘤细胞暴露到 hESCs 微环境(containing Lefty)中导致 Nodal 信号通路的下调,同时发生细胞凋亡增加,集落形成和肿瘤发生减少。抑制致瘤性表型的能力与 Lefty 信号通路的隐置直接相关。hESC 微环境的肿瘤抑制效果,通过抑制侵袭性肿瘤细胞中 Nodal 的表达,提供了先前未开发的治疗肿瘤的新模式。诱导的多能性干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS)是一类通过基因转染等细胞重编程技术人工诱导获得的,具有类似于 ESCs 多能性分化潜力的干细胞。其有向恶性转化的趋势是因为此类细胞表达 Nodal 蛋白而很少表达 Lefty 蛋白^[26]。这进一步说明 ESCs 微环境中 Lefty 蛋白逆转肿瘤的重要性。

4 展望

ESCs 在体外 3D 悬浮培养的条件下形成拟胚体(embryonic bodies, EBs)。EBs 继承了 ESCs 的大量遗传标志。由于其是多个细胞形成的集落,已经形成了细胞外基质骨架,其 3D 组织结构能够胜任诱导细胞分化的重任。由于 ESCs 或 EBs 植入内将形成畸胎瘤,去细胞 EBs 受到重视。将 EB 去细胞处理后,保留其 ECM 成分已经成功用于组织工程研究^[27-30]。这种去细胞支架具有胚胎微环境,但能否诱导和逆转癌变,需要进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Hackett JA, Surani MA. Regulatory principles of pluripotency: from the ground state up[J]. Cell Stem Cell, 2014, 15(4): 416-430
- [2] Antoniou A, Hébrant A, Dom G, et al. Cancer stem cells, a fuzzy evolving concept: a cell population or a cell property? [J]. Cell Cycle, 2013, 12(24): 3743-3748
- [3] Raof NA, Mooney BM, Xie Y. Bioengineering embryonic stem cell microenvironments for the study of breast cancer [J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(11): 7662-7691
- [4] Bratt-Leal AM, Carpenedo RL, McDevitt TC. Engineering the embryoid body microenvironment to direct embryonic stem cell differentiation[J]. Biotechnol Prog, 2009, 25(1): 43-51
- [5] Iwatsuki M, Mimori K, Yokobori T, et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance [J]. Cancer Sci, 2010, 101(2): 293-299
- [6] 关心, 陆智祥, 杨同华. 肿瘤干细胞的生物学特征及其研究进展[J]. 生命科学, 2014, 26(2): 194-200
Guan Xin, Lu Zhi-xiang, Yang Tong-hua. The biological characteristics and research progress of cancer stem cells [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2014, 26(2): 194-200
- [7] Kasai T, Chen L, Mizutani A, et al. Cancer stem cells converted from pluripotent stem cells and the cancerous niche[J]. J Stem Cells Regen Med, 2014, 10(1): 2-7
- [8] Ingber DE. Can cancer be reversed by engineering the tumor microenvironment?[J]. Semin Cancer Biol, 2008, 18(5): 356-364
- [9] 孟龙, 张阳德. 小鼠 Lewis 肺癌细胞与胚胎干细胞体外共培养的生物学行为 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(36): 6794-6797
Meng Long, Zhang Yang-de. Biological behavior of mouse Lewis lung cancer cells co-cultured with embryonic stem cells in vitro[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010, 14(36): 6794-6797
- [10] Kulesa PM, Kasemeier-Kulesa JC, Teddy JM, et al. Reprogramming metastatic melanoma cells to assume a neural crest cell-like phenotype in an embryonic microenvironment[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(10): 3752-3757
- [11] Bischof AG, Yüksel D, Mammoto T, et al. Breast cancer normalization induced by embryonic mesenchyme is mediated by extracellular matrix biglycan [J]. Integr Biol (Camb), 2013, 5(8): 1045-1056
- [12] Polyak K, Haviv I, Campbell IG. Co-evolution of tumor cells and their microenvironment[J]. Trends Genet, 2009, 25 (1): 30-38
- [13] Hannu J, Annele S, Markku K, et al. Extracellular matrix molecules: potential targets in pharmacotherapy[J]. Pharmacol Rev, 2009, 61(2): 198-223
- [14] Schrader J, Gordon-Walker TT, Aucott RL, et al. Matrix stiffness modulates proliferation, chemotherapeutic response, and dormancy in hepatocellular carcinoma cells [J]. Hepatology, 2011, 53 (4): 1192-1205
- [15] Jin Y. Human embryonic stem cells create their own niche [J]. Cell Research, 2007, 17(9): 744-745
- [16] Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell[J]. Blood Cells, 1978, 4(1-2): 7-25
- [17] Scadden DT. The stem-cell niche as an entity of action [J]. Nature, 2006, 441(7097): 1075-1079
- [18] Talukdar S, Kundu S C. Engineered silk fibroin protein 3D matrices for in vitro tumor model[J]. Biomaterials, 2011, (8): 2149-2159
- [19] Mintz B, Illmensee K. Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1975, 72(9): 3585-3589
- [20] Hou S, Tian W, Xu Q, et al. The enhancement of cell adherence and inducement of neurite outgrowth of dorsal root ganglia co-cultured with hyaluronic acid hydrogels modified with Nogo-66 receptor antagonist in vitro[J]. Neuroscience, 2006, 137(2): 519-529
- [21] Janet Z, Emmanouil DK, Christopher YL, et al. The influence of scaffold elasticity on germ layer specification of human embryonic stem cells[J]. Biomaterials, 2011, 32(36): 9612-9621
- [22] Nurazhani AR, Waseem KR, James C, et al. Bioengineering embryonic stem cell microenvironments for exploring inhibitory effects on metastatic breast cancer cells [J]. Biomaterials, 2011, 32 (17): 4130-4139
- [23] RSilva K, Maricel VM, Ana MS, et al. The microenvironment determines the breast cancer cells' phenotype: organization of MCF7 cells in 3D cultures[J]. BMC Cancer, 2010, 10(263): 1471-1484
- [24] Strizzi L, Hardy KM, Kirschmann DA, et al. Nodal expression and detection in cancer: experience and challenges [J]. Cancer Res, 2012, 72(8): 1915-1920
- [25] Lynne MP, Naira VM, Elisabeth AS, et al. Human embryonic stem cell microenvironment suppresses the tumorigenic phenotype of aggressive cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(11): 4329-4334
- [26] Saito A, Ochiai H, Okada S, et al. Suppression of Lefty expression in induced pluripotent cancer cells[J]. FASEB J, 2013, 27(6): 2165-2174
- [27] Bratt-Leal AM, Carpenedo RL, McDevitt TC. Engineering the embryoid body microenvironment to direct embryonic stem cell differentiation[J]. Biotechnol Prog, 2009, 25(1): 43-51
- [28] Lin H, Yang G, Tan J, et al. Influence of decellularized matrix derived from human mesenchymal stem cells on their proliferation, migration and multi-lineage differentiation potential[J]. Biomaterials, 2012, 33(18): 4480-4489
- [29] Goh SK, Olsen P, Banerjee I. Extracellular matrix aggregates from differentiating embryoid bodies as a scaffold to support ESC proliferation and differentiation[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61856
- [30] Sart S, Ma T, Li Y. Extracellular matrices decellularized from embryonic stem cells maintained their structure and signaling specificity[J]. Tissue Eng Part A, 2014, 20(1-2): 54-64