

肝癌干细胞表面标志物及其在临床诊疗中的应用研究进展

晁旭, 赵家荣, 张艳芳

[摘要] 肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,具有发病率高和术后易转移的特点,一直是临床医学研究的热点。近年来,从肝癌组织和细胞中发现了多种表面标志物,它们在正常细胞中不表达或低表达,而在肝癌干细胞表面特异性高表达,已经成为肝癌早期诊断和靶向治疗的依据。作者对与肝癌转移和复发相关的肝癌干细胞表面标志物及其在临床诊疗中应用的研究进展进行综述。

[关键词] 肝癌;干细胞;生物标志物

[中图分类号] R735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2018)02-0125-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2018.02.015

Research progress in surface markers of liver cancer stem cells and their applications in clinical diagnosis and treatment

CHAO Xu^{1,2}, ZHAO Jiarong¹, ZHANG Yanfang¹

(1. College of Basic Medical Sciences, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi 712046, China; 2. Department of Translational Medicine, the Second Hospital Affiliated Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi 712000, China)

[Abstract] Liver cancer is one of the most common malignant tumors in our country, it has the characteristics of high incidence and postoperative metastasis, which has been a hot topic in clinical research. Liver cancer may be caused by liver cancer stem cells (LCSC) differentiation, this provides new ideas for liver cancer treatment. In recent years, from liver cancer tissue and cells a variety of surface markers have found. Normal cells have no expression or low expression, while on the surface of LCSC specifically with high expression. These markers have become the target and basis for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. In this review, the surface markers of LCSC related to liver metastasis, recurrence and their applications in clinical diagnosis and treatment are reviewed.

[Key words] Liver cancer; Stem cells; Biomarkers

原发性肝癌由于其高发病率和高死亡率,一直是医学史上的难题。原发性肝癌的临床现象极不典型,一旦症状出现,就意味着肿瘤体积已经较大,疾病的发展速度会急剧加快。因此,肝癌的早期诊断和治疗一直是备受生物学家和医生关注的热点。肿瘤干细胞学说的提出,为肝癌的治疗提供了新思路。肿瘤干细胞学说认为^[1],肿瘤干细胞是一小部分具有自我更新、无限增殖以及成瘤性的一类干细胞,是肿瘤形成、转移和复发的根本原因。另外,正常干细胞可以累积突变为肿瘤干细胞,进而可以形成肿瘤。Chiba等^[2]从肝癌细胞系 Huh7 和 PLC/PRF/5 中分

离出的“干细胞样”细胞给非肥胖糖尿病/重症联合免疫缺陷小鼠注射,通过成瘤性实验证实了肝癌干细胞的存在。

随着肝癌干细胞研究的不断深入,发现在肝癌干细胞表面,存在许多在正常细胞中不表达或低表达、而在肿瘤干细胞表面高表达的特异分子,这些分子中有的可以作为肝癌标志物,在肝癌的早期检测及预后判断中发挥着重要作用。肿瘤干细胞同时通过细胞因子与肿瘤微环境中的各种细胞保持着紧密的联系^[3]。作者对与肝癌转移和复发相关的肝癌干细胞表面标志物及其在临床诊疗中应用的研究进展进行综述。

[基金项目] 陕西省教育厅专项科研计划项目(16JK1207)

[作者单位] 712046 陕西 咸阳,陕西中医药大学基础医学院(晁旭,赵家荣,张艳芳); 712000 陕西 咸阳,陕西中医药大学第二附属医院转化医学科(晁旭)

1 CD133

CD133 是一种具有 5 个跨膜区、相对分子质量

为 120 kD 的细胞表面糖蛋白。其作为干细胞表面标志物的主要特点是细胞逐步分化后, CD133 的表达量会快速下调。随着研究的深入, 发现 CD133 在前列腺癌、脑肿瘤、黑色素瘤干细胞中均可作为表面标志物, 而 CD133 也被证实可以作为肝癌干细胞表面标志物。Suetsugu 等^[4] 研究发现, 肝癌细胞具有与肿瘤干细胞相似的成瘤性、无限增殖能力以及自我更新的生物学特性。张荣生^[5] 研究发现 CD133 阳性细胞体外培养一段时间后, 纯化的 CD133 细胞群可以分化出 CD133 阴性细胞, 而 CD133 阴性细胞则不具有分化出 CD133 阳性细胞的能力。林家耀等^[6] 从 25 例癌旁组织和肝癌组织标本中分离出干细胞和肝癌细胞, 原代培养后, 发现在肝癌组织中, CD133 的表达率明显高于癌旁组织。各种研究结果表明, CD133 肝癌细胞可能是肝癌干细胞。由此证明, CD133 可以作为肝癌干细胞表面标志物, 但缺乏敏感性和特异性, 不能单独作为诊断依据。

2 CD44

CD44 是细胞表面的一种与细胞黏附、迁移密切相关的糖蛋白。由于 CD44 的外显子在转录时有不同的作用方式, 可将其分为 CD44s (标准型) 和 CD44v (变异型) 2 种类型。其中, CD44v 与肿瘤的转移、侵袭相关联, 通常表达在增殖活跃的恶性肿瘤细胞表面。Yang 等^[7] 报道, 在裸鼠实验中 CD90⁺ CD44⁺ 细胞比 CD90⁺ CD44⁻ 细胞有更强的成瘤能力, 细胞的致瘤性是由 CD90⁺ CD44⁺ 细胞提供的, CD90⁺ CD44⁻ 无致瘤性。因此, 可以将 CD44 和 CD90 联合作为鉴定肝癌干细胞的标志物。莘长明^[8] 发现 CD44⁺ 表达对手术切除肝癌的预后有着显著的影响, 证实了 CD44 的表达对肝癌的治疗和复发有着重要作用。姜姗^[9] 研究发现诱癌小鼠在不同的诱癌阶段, 肝癌干细胞标志物 CD44 和 EpCAM 的信使 RNA 和蛋白表达水平有所不同, 其激活的先后次序也不同, 但随着诱癌时间的延长, 其表达水平均逐渐增加, 提示 CD44 和 EpCAM 参与了肝癌的发生和发展。

3 CD90

CD90 是细胞黏附分子, 其相对分子质量在 25~30 kD 之间, 与细胞-细胞、细胞-基质间的黏附, 细胞凋亡和转移, 神经再生等方面都有相关的作用, 但具体作用机制目前仍在研究。Saalbach 等^[10] 发现, CD90 与新生血管的形成有关, 是人类微血管内皮细胞活化的标志, 可能与肝癌的血行转移相关。张华等^[11] 采用免疫组化法检测组织中 CD90 的表达, 发

现 CD90 在肝癌中有不同程度的表达, 而且随着肝癌分期的增加, CD90 的表达也会随之增加。实验结果表明, CD90 的表达可能对肝癌的转移、发生产生影响。郑飞等^[12] 研究表明肿瘤的发生和发展与炎症之间存在十分密切的联系, Kupffer 细胞释放的一些炎症因子和肿瘤干细胞标志物 CD90 上调之间呈显著正相关关系, 说明一些炎症因子会对肿瘤干细胞发挥重要的调控作用。

Sukowati 等^[13] 采用免疫磁珠法分选出肝癌细胞株中的 CD90 阳性细胞, 发现其可以在无血清培养基中悬浮生长, 而且细胞子代均为 CD90 阳性细胞, 说明 CD90 能够自我更新, 且增殖能力很强。

综上所述, CD90 可以作为肝癌干细胞的表面标志物。但是, Yamashita 等^[14] 提出 CD90 阳性肝癌干细胞样细胞只有在乙肝病毒感染相关的肝癌中出现, 并且可能是在肝癌形成晚期阶段才参与作用。所以, 关于 CD90 作为肝癌干细胞表面标志物仍需进一步研究。

4 CD13

CD13/氨肽酶 N 是跨膜的, 能将氨基酸的氮端切除的酶活性的金属结合蛋白酶。CD13 的研究始于髓样细胞表面标志物, 后发现其分布在多种细胞表面。

从 1993 年 Saiki 等^[15] 提出肿瘤的侵袭性与 CD13 对细胞外基质的降解有关, CD13 可通过降解细胞外基质, 辅助血管生成, 影响抗原呈递, 逃避免疫识别的方法对肿瘤的转移和侵袭进行调控, 许多研究都证实了观点。郭冰^[16] 研究发现, 随着肿瘤的分化程度升高, CD13 的表达水平下调, 推断 CD13 可以作为肝癌干细胞表面标志物。细胞群对肿瘤药物阿霉素或 5-FU 有强的耐药性, 能抑制细胞内活性氧化物的合成, 对放疗产生反映氧簇, 从而保护 DNA, 阻止癌细胞凋亡, 这一发现为肝癌治疗药物的研发提供了新方向。

5 CD24

CD24 是与肿瘤的侵袭和转移相关的、高度糖基化的细胞表面黏附蛋白。Qiu 等^[17] 报道 CD24⁺ 细胞能分化为成熟的正常肝细胞。房新辉和杨玉秀^[18] 通过研究发现在肝癌组织中, CD24 和 CD24 信使 RNA 阳性的表达明显高于正常组织, 并发现 CD24 与肿瘤的分级及预后无相关。王聪仁等^[19] 发现, 在癌旁组织中 CD24 不表达, 在肝癌组织中呈阳性。综上所述, 推测 CD24 有可能作为原发性肝癌早期诊断的表面标志物。

邱新毓等^[20]发现,通过腺病毒载体调节 NDRG2 蛋白表达水平,上调后,抑制了 CD24 的表达, MHCC97h 的侵袭力显著下降,而 NDRG2 的降低可引起 CD24 表达的升高, Huh7 的侵袭力显著升高,这一发现,有助于进行肝癌的靶向治疗的研究。

6 DLK1

DLK1 蛋白是分子量在 45~60 kD 之间的糖基化跨膜蛋白,通过细胞外结构域的两处蛋白酶作用位点,在靠近跨膜区一侧被蛋白酶降解,产生可溶性片段,释放到细胞外调节多种细胞分化。张艳丽和康凯夫^[21]报道,通过检测 150 例原发性肝癌患者肝组织中 DLK1 的表达,发现 DLK1 在正常肝组织中不表达,在肝癌组织中高表达,认为肝脏病变细胞可以产生 DLK1,在肝癌组织的表达中存在特异性。陈南南^[22]发现通过 RNA 干扰沉默 DLK1 基因,可以加速肝癌细胞的凋亡,并抑制其增殖。于峰^[23]通过研究,发现 DLK1 具有促进 SMMC-7721 和 Huh7 肝癌细胞生长、增殖及致瘤能力。实验结果表明,DLK1 不仅可以作为表面标志物,还能用于肝癌的早期诊断。

7 结语与展望

已发现的肝癌表面干细胞还有许多,如 OV6、ALDH、EpCAM、ABCG2 等。肝癌干细胞学说的提出,为肝癌的治疗带来了新的突破。传统的手术、放疗、化疗等治疗方法并不能根治肝癌,放化疗针对的是人体所有细胞,对人体危害大,不能达到较好的治疗效果,且治疗后易于转移、复发,一直是难以克服的困难。针对肿瘤干细胞治疗的纳米药物逐渐引起人们的重视,它们具有可控缓释、靶向、生物相容性高等优点,特别是在纳米药物载体和纳米基因载体方面已经取得了显著的成果^[24]。肿瘤干细胞学说认为,肿瘤是由肿瘤干细胞分化形成的,消灭肿瘤干细胞就可以靶向治愈肿瘤,从而使其不再复发并达到较好的治疗效果。因此,对肿瘤表面特异性标志物的研究刻不容缓。

理论上最理想的肝癌干细胞表面标志物应该只在肿瘤组织中检测到,而在正常组织中不表达,这可作为肝癌检测和治疗的切入点,但目前并不是所有的表面标志物都符合这一特点,说明大多数肝癌细胞表面标志物的特异性是相对的。且对肝癌表面标志物的研究都是从肝癌细胞系中分离出肝癌细胞,在体外进行培养和检测,并不能确定体内和体外表标志物作用与表达是否一致,因此,还有待进一步研究。

通过对肝癌干细胞表面标志物的研究,更加深入了解肝癌的发生与转移机制,为肝癌的靶向治疗提供了方向,且能用于肝癌的早期诊断和预后评估。通过未来不断的研究,相信会发现更多特异性肝癌干细胞表面标志物,为治疗肝癌的药物研发提供方向,使肝癌患者摆脱死亡的威胁。

【参考文献】

- [1] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells [J]. *Nature*, 2001, 414 (6859): 105-111.
- [2] Chiba T, Kita K, Zheng YW, et al. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties [J]. *Hepatology*, 2006, 44 (1): 240-251.
- [3] 郑媛媛,王继红,李庆伟.肿瘤干细胞相关信号通路调节与靶向治疗[J]. *中国生化药物杂志*, 2017, 37(2): 308-312.
- [4] Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, et al. Characterization of CD133⁺ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 351(4): 820-824.
- [5] 张荣生. CD133 作为肝细胞性肝癌肿瘤干细胞表面标记的初步研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2009.
- [6] 林家耀, 张志明, 刘剑勇, 等. 肝细胞性肝癌组织 CD133⁺ 细胞肿瘤干细胞特性的研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2016, 23(4): 223-227, 232.
- [7] Yang ZF, Ho DW, Ng MN, et al. Significance of CD90⁺ cancer stem cells in human liver cancer [J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(2): 153-166.
- [8] 莘长明. CD44 在肝细胞癌中的表达及其与复发转移的关系 [D]. 天津: 天津医科大学, 2013.
- [9] 姜姗. CD44 和 EpCAM 分子在小鼠肝癌发生过程中的表达分析 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2013.
- [10] Saalbach A, Hildebrandt G, Hausteiner UF, et al. The Thy-1/Thy-1 ligand interaction is involved in binding of melanoma cells to activated Thy-1-positive microvascular endothelial cells [J]. *Microvasc Res*, 2001, 64(1): 86-93.
- [11] 张华, 高志红, 刘春玲, 等. Thy-1 肿瘤标记物在肝癌的表达及意义研究 [J]. *医学与哲学: 临床决策论坛版*, 2009, 30(5): 51-53.
- [12] 郑飞, 周文平, 张巍, 等. 大鼠肝癌诱导过程中肝癌干细胞标志及炎症因子的动态变化 [J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(19): 3005-3009.
- [13] Sukowati CH, Anfuso B, Torre G, et al. The expression of CD90/Thy-1 in hepatocellular carcinoma: an in vivo and in vitro study [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76830.

- [14] Yamashita T, Honda M, Nakamoto Y, et al. Discrete nature of Ep CAM(+) and CD90(+) cancer stem cells in human hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2013, 57(4):1484-1497.
- [15] Saiki I, Fujii H, Yoneda J, et al. Role of aminopeptidase N (CD13) in tumor-cell invasion and extracellular matrix degradation [J]. *Int J Cancer*, 1993, 54(1):137-143.
- [16] 郭冰. CD13 在肝癌中的表达及意义 [D]. 大连: 大连医科大学, 2014.
- [17] Qiu Q, Hernandez JC, Dean AM, et al. CD24-positive cells from normal adult mouse liver are hepatocyte progenitor cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2011, 20(12):2177-2188.
- [18] 房新辉, 杨玉秀. CD24 在肝癌组织中的表达 [J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32(14):2924-2926.
- [19] 王聪仁, 苏子剑, 潘群雄, 等. CD24 在原发性肝癌中的表达及其临床意义 [J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2012, 4(4):193-196.
- [20] 邱新毓, 杨建栋, 张毅, 等. NDRG2 通过调控 CD24 影响肝癌细胞侵袭能力的研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2014, 4(9):1637-1640.
- [21] 张艳丽, 康凯夫. 原发性肝癌组织中 DLK1 表达及意义 [J]. *山东医药*, 2010, 50(47):26-28.
- [22] 陈南南. RNA 干扰沉默 DLK1 基因表达在肝癌发生过程中的作用 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2013.
- [23] 于峰. DLK1 在肝癌细胞生长中的作用及机制研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2009.
- [24] 李勇, 刘祎, 王建杰, 等. 纳米粒子在肿瘤干细胞治疗方面的研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(5):986-989, 969.
- (收稿日期: 2017-06-01 本文编辑: 常青云)

(上接第 124 页)

- [21] Dikmen Menten S, Unsal D, Baran O, et al. Effect of sedation with midazolam or propofol on patient's comfort during cancer chemotherapy infusion; a prospective, randomized, double-blind study in breast cancer patients [J]. *J Chemother*, 2005, 17(3):327-333.
- [22] Hunter-Johnson L, Wheeler WL. Use of propofol to manage nonmalignant intractable nausea and vomiting; a case study [J]. *J Palliat Med*, 2016, 19(3):252-253.
- [23] Garg R, Singhal A, Agrawal K, et al. Managing endodontic patients with severe gag reflex by glossopharyngeal nerve block technique [J]. *J Endod*, 2014, 40(9):1498-1500.
- [24] Yoshida H, Ayuse T, Ishizaka S, et al. Management of exaggerated gag reflex using intravenous sedation in prosthodontic treatment [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2007, 212(4):373-378.
- [25] Borgeat A, Wilder-Smith OH, Saiah M, et al. Subhypnotic doses of propofol possess direct antiemetic properties [J]. *Anesth Analg*, 1992, 74(4):539-541.
- [26] Gan TJ, Glass PS, Howell ST, et al. Determination of plasma concentrations of propofol associated with 50% reduction in postoperative nausea [J]. *Anesthesiology*, 1997, 87(4):779-784.
- [27] Cechetto DF, Diab T, Gibson CJ, et al. The effects of propofol in the area postrema of rats [J]. *Anesth Analg*, 2001, 92(4):934-942.
- [28] Borgeat A. Subhypnotic doses of propofol do not possess antidopaminergic properties [J]. *Anesth Analg*, 1997, 84(1):196-198.
- [29] Barann M, Linden I, Witten S, et al. Molecular actions of propofol on human 5-HT3A receptors: enhancement as well as inhibition by closely related phenol derivatives [J]. *Anesth Analg*, 2008, 106(3):846-857.
- [30] Chassard D, Lansiaux S, Dufflo F, et al. Effects of subhypnotic doses of propofol on gastric emptying in volunteers [J]. *Anesthesiology*, 2002, 97(1):96-101.
- (收稿日期: 2017-08-17 本文编辑: 常青云)